

Variação Sazonal do Perfil Lipídico da Corvina produzida em Aquacultura

Margarida de Sá Freire

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar

Orientadora: Doutora Narcisa Maria Mestre Bandarra

Coorientadora: Doutora Margarida Moldão Martins

Coorientadora: Sara Machado Costa

Júri

Presidente: Doutor Augusto Manuel Nogueira Gomes Correia, Professor Associado com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogal: Doutora Maria Suzana Leitão Ferreira Dias Vicente, Professora Auxiliar com agregação, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Narcisa Maria Mestre Bandarra, Investigadora Auxiliar do Instituto Português do Mar e da Atmosfera

2015

AGRADECIMENTOS

À Dra. Narcisa Bandarra, minha orientadora, por ter-me possibilitado a realização deste projeto, pela forma como tão bem me recebeu, por toda a compreensão, incentivo, confiança, profissionalismo e conhecimento transmitido ao longo de toda a elaboração da tese.

À Professora Dra. Margarida Moldão Martins, minha coorientadora, o meu sincero agradecimento pela total disponibilidade, prontidão, empenho e ensinamento que me concedeu durante todo este percurso. Por todo o encorajamento, motivação e amizade.

À Bolseira de investigação, Sara Costa, minha coorientadora, pela inteira disponibilidade e carinho que sempre demonstrou. Por todo o tempo despendido e por tudo o que me ensinou a nível laboratorial.

Ao Projecto AQUACOR - Projecto-piloto de cultivo de corvina em vários sistemas de produção, financiado pelo Programa PROMAR (Projecto Nº 31-03-05-FEP-0003), o qual suportou na totalidade a realização da presente dissertação. Agradeço igualmente ao Dr. Pedro Pousão e a todo o pessoal da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão as facilidades que me concederam.

Ao IPMA, pela possibilidade que me forneceu de realizar a minha tese de mestrado nas suas instalações, e também por me possibilitar o primeiro contacto com o mundo da investigação.

Aos meus Pais, o meu profundo agradecimento por todo o amor, carinho, apoio e conselhos que me deram. Por terem sempre acreditado nas minhas capacidades e terem sempre uma palavra amiga e encorajadora. Por me terem permitido crescer numa família unida e estruturada que me fez ser quem eu sou.

Às minhas irmãs, Paula e Mariana, por todo o carinho, compreensão, amizade e união que sempre me deram. Por estarem sempre disponíveis para mim, pelas horas que perderam a ouvir os meus problemas. Paula, agradeço-te por todos os artigos que me deste, por, mesmo estando longe, teres estado sempre presente nesta etapa da minha vida. Mariana, por todos os momentos que partilhámos nestes 23 anos de vida, por seres a pessoa que melhor me conhece e por tentares sempre motivar-me e fazeres-me acreditar no meu potencial.

Ao meu namorado, Filipe, por todo o apoio, paciência, compreensão, amor que me deu ao longo de toda a tese. Por nunca ter deixado de acreditar nas minhas capacidades e no meu valor, mesmo nas alturas em que eu duvidava.

Às minhas colegas de curso e amigas, Carolina Costa e Diana Silva, por me terem acompanhado nestes últimos 5 anos. Sem vocês a minha vida académica e pessoal no ISA não teria sido a mesma coisa. Obrigada por todo o apoio, por todas as horas de almoço que passámos juntas, por todos os trabalhos de grupo que fizemos e por todas as gargalhadas que dei ao vosso lado.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA - *Arachidonic Acid* (Ácido Araquidónico)

AG- Ácido(s) gordo(s)

ALA - *α -Linolenic acid* (Ácido Alfa-linoleico)

CL- *Cholesterol* (Colesterol)

DAG – *Diacylglycerol* (Diacilglicerol)

DGRM - Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos

DHA - Ácido 4, 7, 10, 13, 16, 19 – Docosahexenóico 22:6 n-3

EPA - Ácido 5,8,11,14,17- Eicosapentenóico, 20:5 n-3

FA – *Fatty Acids* (Ácidos gordos)

FAME - *Fatty acid methyl esters* (Ésteres Metílicos dos Ácidos Gordos)

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FFA – *Free Fatty Acids* (Ácidos gordos livres)

GC-FID - Cromatografia Gás-liquido com detetor de Ionização de Chama

HDL - *High-density lipoprotein* (Lipoproteínas de Alta Densidade)

INE - Instituto Nacional de Estatística

ISSFAL – *International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids*

LA – *Linoleic Acid* (Ácido Linoleico)

LDL – *Low-density lipoprotein* (Lipoproteína de Baixa Densidade)

LT - Lípidos Totais

MAG – *Monoacylglycerol* (Monoacilglicerol)

MUFA – *Monounsaturated Fatty Acids* (Ácidos Gordos Monoinsaturados)

PC - Fosfatidilcolina

PL – *Phospholipids* (Fosfolípidos)

PUFA – *Polyunsaturated Fatty Acids* (Ácidos Gordos Polinsaturados)

SFA – *Saturated Fatty Acids* (Ácidos Gordos Saturados)

TAG – *Triacylglycerol* (Triacilglicerol)

TLC - *Thin Layer Chromatography* (Cromatografia de camada fina)

VLDL – *Very-Low density lipoprotein* (Lipoproteínas de Densidade Muito Baixa)

WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde)

RESUMO

A corvina, *Argyrosomus regius*, é um peixe com boas características nutricionais e adaptativas. A sua produção em aquacultura tem aumentado e têm sido realizados estudos com vista a melhorar a sua produção.

A dissertação centrou-se no estudo da variação sazonal (Janeiro a Julho) do perfil lipídico de órgãos de corvina (gónadas, fígado e músculo) e na respetiva análise nutricional.

A análise dos resultados (lípidos totais, classe de lípidos, perfil dos ácidos gordos nos diferentes órgãos) evidenciou que o fator que mais influência a composição lipídica da corvina é o tipo de órgão, em detrimento do mês de abate. O fígado é o órgão com maior teor lipídico (47 - 59,2 % Lípidos Totais); as gónadas são o órgão mais rico em ácidos gordos ómega-3, destacando-se o ácido eicosapentaenóico (EPA) (3-5 % ácidos gordos totais) e ómega-6, em particular AA (2-7 % ácidos gordos totais); o músculo contém elevados teores de ácido linoleico (LA) e de ácido docosahexanóico DHA (12-14 % e 5-12 % ácidos gordos totais, respetivamente), pelo que evidencia a sua correlação com a ração.

A análise nutricional evidenciou que a corvina é um peixe magro e uma boa fonte de proteína, contendo cerca de $33,6 \pm 0,96$ e $33,1 \pm 0,6$ g de proteína/160 g de corvina nos meses de Janeiro e Junho, respetivamente. Revelou níveis elevados de EPA+DHA. Numa refeição (160 g de corvina) o consumidor adquirirá um teor de EPA+DHA superior ao recomendado pelo ISSFAL (500 mg/dia), na prevenção primária da doença cardiovascular, contribuindo com teores na ordem dos 112,5 % em Janeiro e 131,2% em Junho.

Palavras-chaves: Corvina de aquacultura; órgãos; variação sazonal; perfil lipídico; EPA+DHA.

ABSTRACT

Meagre, *Argyrosomus regius*, has shown good nutritional and adaptative features. As a result, its production in aquaculture system has been increasing.

The key objective of this thesis is to study the seasonal variation (from January to July) in lipid content of different organs from meagre (gonads, liver and muscle), as well as muscle nutritional information.

In this study, we analysed the total of lipids, lipids class and fatty acids profile in different organs. Our results revealed that the most determinant factor in fatty acid composition is the type of organ, rather than the month of capture. Overall, our results showed that (i) the liver is the organ with the highest levels of total lipids (LT) (47 – 59 % LT); (ii) the gonads are the organ with the highest level of omega-3 fatty acids, mainly Eicosapentaenoic acid (EPA) (3-5 % total fatty acid) and omega-6, in particular Arachidonic Acid (AA) (2-7 % total fatty acid); (iii) the muscle is rich in Docosahexaenoic acid (DHA) and in Linoleic Acid (LA) (12-14 % and 5-12 % totals fatty acids, respectively), showing a good correlation with the diet.

Finally, this study also revealed that meagre is a lean fish and a good source of protein, with levels close to $33,6 \pm 0,96$ and $33,1 \pm 0,6$ g protein/160 g meagre in January and June, respectively. The muscle fatty acid composition showed that meagre flesh is rich in EPA+DHA. In a regular meal (160 g of meagre) the consumer can obtain levels of EPA+DHA (562,2 mg/ 160 g of meagre in January and 655,8 mg/160g of meagre % in June) higher than the recommended by ISSFAL (500 mg/ day), for the first prevention of CVD.

Keywords: Farmed Meagre; organs; seasonal variation; lipid profile; EPA+DHA.

EXTENDED ABSTRACT

The consume of fish has been increasing, in the last decades, mainly due to the incresease of the aquaculture sistem production. With it the man is able to create the best conditions to the development of the fish and can, at the same time, avoid the risk of species extinguishment.

Many studies, with different types of fishes, have reveled that the consumption of fish has a important role in human's health. Most of these animals have a benefic lipidic composition, being rich in omega-3 and omega-6 fatty acids. It's in these direction that the present study with meagre is insered. Although this specie is classified as a lean fish, many studies indicate that it has significant levels of Eicosapentaenoic acid (EPA) and Docosahexaenoic acid (DHA).

Consequently, the present thesis has as principals goals, in one hand, the study of the seasonal variation of the lipids profile in different organs/ tissues of meagre and, in the other hand, the study of the muscle nutritional composition in two differents months (January and June).

For the first purpose three differents organs/tissues of meagre - gonads, liver and muscle - were analysed, during January to July. During the experiment the meagre where always fed with the same diet and the water temperature were monitored.

The results analysis showed that the most important factor in meagre lipids composition was the type of organ instead of the month of capture. They also reveled that, in opposition of what it's believed, there weren't none significant variation in fatty acids profile in each organ. The multivariate analyse indicated that the three organs didn't have significant variation as fatty acids profile is concerned, during this study. The liver indicated to be the organ with higher levels of totals lipids (47-59 % Total Lipids) and, as main organ of lipids first metabolization, reveled high levels of EPA and Arachidonic Acid (AA), similarly to the diet. The gonads reveled to be the organ with the biggest level of omega-3 and 6 fatty acids, particularly EPA and AA (3-5 % totals fatty acids and 2-7 % totals fatty acids, respectivaly). As the muscle is concerned, the thesis exposed that it reflects the meagre intake. The muscle had high levels of Linoleic Acid (LA) and DHA (12-14 % and 5-12 % totals fatty acids, respectivaly), fatty acids importants in the diet.

Relatively to nutritional composition, the meagre reveled to have low levels of fat, but high levels of protein. The nutritional composition, in the two months analysed, pratically did not changed. About levels of EPA+DHA, the meagre showed high levels of these two

fatty acids, contributing with 112 and 131 %, for the dietary reference intake (DRI) defined by ISSFAL, for the first prevention of CVD, in January and June, respectively.

In sum, the intake of meagre should be more valued by the population, and more studies should be made with the purpose of find better ways to improve its development in aquaculture system.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
EXTENDED ABSTRACT	vi
ÍNDICE GERAL	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE QUADROS.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. A Aquicultura	3
1.2. A Corvina.....	8
1.3. Os Lípidos	11
1.3.1. Designação	11
1.3.2. Os Lípidos no pescado	13
1.3.3. Digestão, absorção e transporte dos lípidos nos peixes	14
1.3.4. Metabolismo dos Lípidos nos peixes	15
1.3.5. Biossíntese de ácidos gordos monoinsaturados	17
1.3.6. Biossíntese de ácidos gordos polinsaturados	17
1.3.7. Fatores que influenciam o perfil de ácidos gordos nos peixes	18
1.4. Benefícios do consumo de pescado na saúde humana	20
2. OBJETIVOS	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1. Preparação da Amostra.....	25
3.2. Determinações Analíticas	27
3.2.1. Determinação do teor de lípidos totais (Método <i>Folch</i>)	27
3.2.2. Determinação da classe de lípidos por cromatografia de camada fina (<i>thin layer chromatography – TLC</i>)	28
3.2.3. Determinação do Perfil em Ácidos Gordos	30
3.2.4. Composição Nutricional.....	33
3.3. Tratamento dos resultados	35
3.3.1. Tratamento estatístico dos dados	35
3.3.2. Tratamento dos resultados relativos à composição nutricional	35
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	37
4.1. Caracterização da composição lipídica da ração	37
4.2. Variação Sazonal do Perfil Lipídico da Corvina	37
4.2.1. Lípidos Totais e Classe de Lípidos	37
4.2.2. Composição, em termos de ácidos gordos, nos diferentes órgãos	40

4.2.3. Análise Multivariada dos resultados.....	52
4.3. Composição Nutricional do Músculo da Corvina	55
5. CONCLUSÕES.....	58
6. BIBLIOGRAFIA.....	59
7. CIBERGRAFIA	63
ANEXOS.....	65
ANEXO I – Cromatograma do Fígado do mês de Julho	66
Anexo II - TLC analítica das Gónadas	67
ANEXO III – TLC analítica do Fígado	68
ANEXO IV- TLC analítica do Músculo	69
ANEXO V – Análise de variância ao teor de ácidos gordos, em percentagem dos ácidos gordos totais, ao longo do tempo, nas Gónadas	70
ANEXO VI – Análise de variância ao teor de ácidos gordos, em percentagem dos ácidos gordos totais, ao longo do tempo, no Fígado	72
ANEXO VII – Análise de variância ao teor de ácidos gordos, em percentagem dos ácidos gordos totais, ao longo do tempo, no Músculo	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução da produção de peixe "Selvagem" e de peixe produzido em Aquacultura.	3
Figura 2 - Produção aquícola em alguns países da EU.	5
Figura 3 - Evolução da produção em Aquacultura em Portugal.	6
Figura 4 - Principais espécies produzidas em aquacultura, em Portugal, em 2010.	7
Figura 5 - Ciclo dos triacilgliceróis.....	17
Figura 6 - Biossíntese dos ácidos gordos essenciais.	18
Figura 7 - Metabolismos dos ácidos gordos essenciais.	21
Figura 8 - Plano de Amostragem (PAm) e Plano Analítico (PA).....	26
Figura 9 - Representação esquemática de uma TLC.	30
Figura 10 - Teor de ácidos gordos saturados totais nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.....	40
Figura 11 - Teor em ácidos gordos monoinsaturados totais nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.....	42
Figura 12 - Teor em ácidos gordos polinsaturados totais nas gónadas, fígado e músculo, da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.	43
Figura 13 - Teor do ácido gordo 18:2 n-6 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.	44
Figura 14 - Teor no ácido gordo 20:4 n-6 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, os meses de Janeiro a Julho.	45
Figura 15 - Teor do ácido gordo 20:5 n-3 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.	47
Figura 16 - Teor do ácido gordo 22:5 n-3 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.	48
Figura 17 - Teor no ácido gordo 22:6 n-3 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.	49
Figura 18 – Projecção das variáveis no plano definido pelas componentes principais 1 e 2.	53
Figura 19 - Projecção das amostras no plano.....	52
Figura 20 - Dendograma.....	54

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Importância de cada continente no sector da aquacultura, de 1990 a 2012.	4
Quadro 2 - Principais espécies produzidas em Portugal.	7
Quadro 3 - Composição Nutricional de Corvinas de Aquacultura.	9
Quadro 4 - Composição do músculo da Corvina produzida em Aquacultura e Selvagem.	10
Quadro 5 - Principais ácidos gordos insaturados para a saúde humana.	12
Quadro 6 - Temperatura da água (°C).	25
Quadro 7 - Material e reagentes utilizados na determinação do Teor de Lípidos totais pelo método de <i>Folch</i> .	27
Quadro 8 - Material e Reagentes utilizados na determinação da classe de lípidos por cromatografia de camada fina.	29
Quadro 9 - Material e Reagentes utilizados na determinação do perfil em ácidos gordos.	31
Quadro 10 - Material utilizado na determinação da humidade nas amostras de corvina.	33
Quadro 11 - Material e Reagentes utilizados na determinação do teor proteico da corvina.	34
Quadro 12 - Composição Lipídica da ração administrada às corvinas.	37
Quadro 13 - Classe de lípidos presentes nas Gónadas.	38
Quadro 14 - Classe de lípidos presentes no Fígado.	39
Quadro 15 - Classe de lípidos presentes no Músculo.	40
Quadro 16 - Análise dos fatores principais.	52
Quadro 17 - Composição Nutricional do músculo de corvina, de 2,5 kg, produzida em aquacultura.	55

1. INTRODUÇÃO

O consumo de peixe nas sociedades atuais tem aumentado gradualmente devido essencialmente aos benefícios para a saúde humana, que a sua composição, nomeadamente lipídica, origina. A maior parte do pescado é rico em ácidos gordos essenciais (ácido gordo linoleico e ácido gordo linolénico), não sendo sintetizados pelo nosso organismo, têm que ser adquiridos através da alimentação. Vários estudos demonstram que estes ácidos gordos fundamentais auxiliam na prevenção de inúmeras doenças, desde doenças cardíacas, neurológicas, até problemas associados com o desenvolvimento humano.

Assim, é natural que a produção piscícola tenda a aumentar. Este aumento resulta essencialmente do crescimento do sector da aquacultura, uma vez que a captura selvagem de peixes é limitada, no sentido de preservação das espécies.

O próprio crescimento exponencial da população mundial contribui indiretamente para o desenvolvimento da aquacultura, uma vez que, se a população aumenta, é lógico que se deva produzir uma maior quantidade de alimento, para suprir as suas necessidades nutricionais. E, como o peixe é um produto muito interessante a nível nutricional, é ainda de maior proveito aumentar a sua produção.

A aquacultura permite a criação de um grande número de espécies marinhas e fornece as condições necessárias para o seu desenvolvimento. É de conhecimento geral que os recursos alimentares não são ilimitados e, na maior parte dos casos, são sazonais, isto é, a produção não é constante ao longo do ano, resultado essencialmente das condições meteorológicas. Estas oscilações, no caso dos peixes, podem ser minimizadas pelo cultivo em aquacultura.

Muitos investimentos têm sido feitos nesta área, no sentido de aumentar a diversidade de espécies criadas e fornecer melhores condições. Com este propósito insere-se a corvina. Esta é uma espécie que demonstra possuir boas características adaptativas para o seu desenvolvimento em aquacultura, apresenta uma boa composição nutricional, sensorial e de textura, tem um baixo custo de produção e é facilmente comercializada a um preço relativamente elevado. Deste modo é uma oportunidade de mercado que deve ser aproveitada. No entanto, até à data poucos estudos foram realizados nesta espécie o que faz com que exista pouca informação sobre vários temas, como é o caso da evolução dos ácidos gordos nos diferentes órgãos da corvina ao longo da época de produção. Pretende-se com o presente estudo compreender se

existe diferença significativa no perfil lipídico dos diferentes órgãos (gónadas, fígado e músculo) ao longo de um período de seis meses (de Janeiro a Julho).

1.1. A Aquicultura

A FAO, em 2014, define aquicultura como sendo a técnica de produção de seres vivos aquáticos, desde peixes, moluscos, crustáceos e plantas aquáticas, que visa suprir as necessidades do homem. Esta técnica de produção implica a intervenção do homem, ao nível climático (temperatura da água, salinidade, entre outros fatores), na alimentação e até mesmo a nível da existência de predadores. Este termo inclui o cultivo de espécies em águas doces e salgadas.

A aquicultura é um meio viável de criação de espécies aquáticas que, ao longo dos anos, tem vindo a apresentar um grande crescimento graças à crescente valorização que os produtos da pesca têm evidenciado. Cada vez mais a população mundial, destacando-se os países com maior poder de compra ou ditos países “desenvolvidos”, tem consumido mais peixe, devido, essencialmente, aos comprovados benefícios nutricionais que estes produtos detêm. Este aumento na procura criou uma necessidade no homem de investir e desenvolver os sistemas artificiais de cultivo de peixes, para que, por um lado, combata o risco de extinção de espécies e, por outro lado, haja quantidade suficiente de alimento (fig. 1).

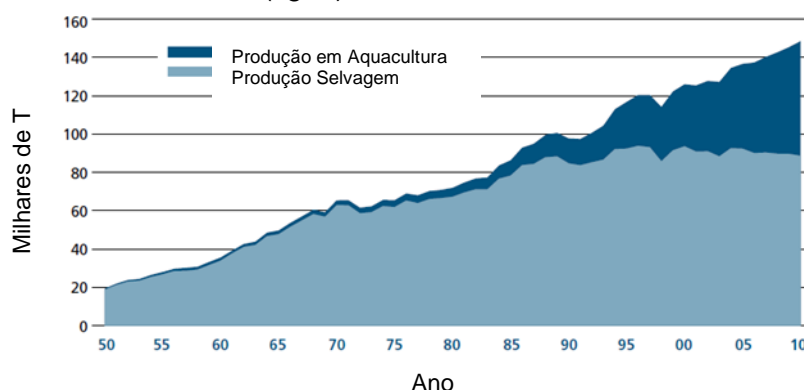


Figura 1 - Evolução da produção de peixe "Selvagem" e de peixe produzido em Aquicultura.

Fonte: FAO, 2012.

Deste modo, a aquicultura apresenta inúmeras vantagens tanto para o homem como para as espécies marítimas, entre as quais:

- Produz maior quantidade de peixe comparativamente com a produção selvagem;
- Assume um papel de relevo no panorama de abastecimento piscícola mundial, uma vez que um hectare cultivado com peixe produz mais do que qualquer outro animal;
- Permite o fornecimento adequado de peixe a certas populações onde as condições de pesca não são propícias e a carência deste alimento é elevada;

- Permite a criação de condições apropriadas (climáticas e alimentares) para o crescimento adequado e rápido das espécies;
- Permite a preservação das espécies;
- Diminui oscilações no mercado de distribuição de peixe (Tlustý, 2001).

Em contrapartida, sendo algo construído artificialmente e com a intervenção humana, é natural que acarrete algumas desvantagens: pode contribuir para a diminuição da diversidade das espécies; as rações e os produtos utilizados podem prejudicar o ecossistema quando indevidamente utilizados; pode proporcionar a rápida propagação de doenças (Tlustý, 2001).

Como referido anteriormente, a aquacultura tornou-se, nos últimos anos, uma das alternativas mais rentáveis para o fornecimento de peixe, conseguindo facultar alimento suficiente para acompanhar o crescimento da população mundial. Entre os anos de 2002 e 2012, este tipo de criação de peixe obteve um crescimento anual de 6,1%, passando de 36,8 milhares de toneladas em 2002 para cerca de 66 milhares de toneladas em 2012 (FAO Yearbook, 2014).

A produção total de peixe para consumo humano aumentou de 70 % em 1980 para 85 % em 2012 e o consumo *per capita* aumentou de 10 kg em 1960 para cerca 19 kg em 2012 (FAO, 2014).

Como principal continente produtor em aquacultura, destaca-se o continente Asiático, com cerca de 88 % da produção mundial. Segue-se o continente Americano com apenas 4,78 %, a Europa com 4,32 %, a África com 2,23 %, e por fim, a Oceânia com 0,28 %, no ano de 2012. Pode-se constatar a enorme discrepância que existe, no sector da aquacultura, entre o continente Asiático e os outros continentes. Os dados evidenciam que o continente asiático detém grande parte da produção mundial em aquacultura (Quadro 1) (FAO, 2012).

Quadro 1 - Importância de cada continente no sector da aquacultura, de 1990 a 2012.

		1990	1995	2000	2005	2010	2012
África	T	81 015	110 292	399 688	646 182	1 286 591	1 485 367
	%	0,62	0,45	1,23	1,46	2,18	2,23
América	T	548 479	919 571	1 423 433	2 176 740	2 581 089	3 187 319
	%	4,19	3,77	4,39	4,91	4,37	4,78
Ásia	T	10 801 531	21 677 062	28 420 611	39 185 417	52 436 025	58 895 736
	%	82,61	88,90	87,67	88,46	88,82	88,39
Europa	T	1 601 649	1 581 359	2 052 567	2 137 340	2 548 094	2 880 641
	%	12,25	6,33	6,49	4,83	4,32	4,32
Oceânia	T	42 005	94 238	121 482	151 466	185 617	184 191
	%	0,32	0,39	0,37	0,34	0,31	0,28
Total	T	13 074 679	24 382 522	32 417 781	44 297 145	59 037 416	66 633 253

Adaptado de FAO, 2012.

Porém, na Ásia nem todos os países possuem um desenvolvimento tão acentuado na aquacultura existindo algumas discrepâncias. A China é o país que tem um maior peso, detendo em 2010 cerca 61,4 % da produção neste continente. Como principais produtos produzidos em aquacultura, no continente asiático destacam-se: peixes (64,6 %), moluscos (24,2 %), crustáceos (9,7 %) (FAO, 2012).

No continente americano, os países que se destacam são os países da América Latina, como o Brasil e o Perú, e os produtos mais produzidos são também os peixes (57,9 %), seguidos dos crustáceos (21,7 %) e dos moluscos (20,4 %) (FAO, 2012).

No caso da Europa, os principais países produtores são a Espanha, a França e a Itália (fig. 2) e o principal produto cultivado é também os peixes (75 %), seguido dos moluscos, que corresponde a 25 %da produção (FAO, 2012).

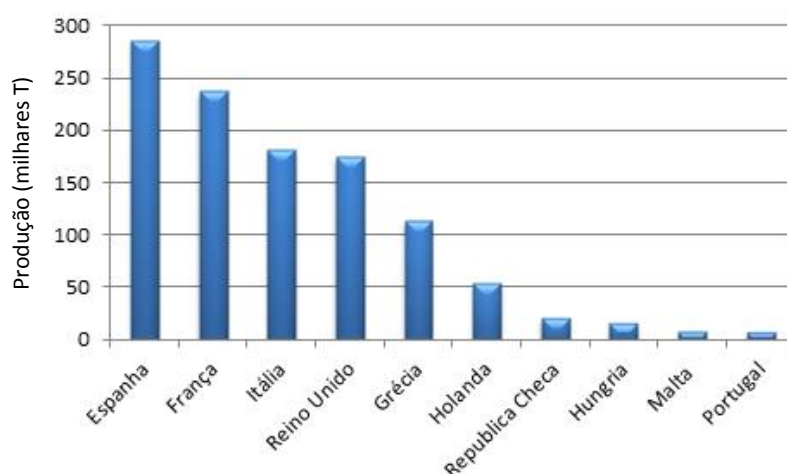


Figura 2 - Produção aquícola em alguns países da EU.

Fonte: EC Maritime Affairs and Fisheries.

Portugal, apesar de ser um país com grande tradição no sector da piscicultura, não se encontra entre os principais países produtores de pescado em aquacultura, resultante de diversas políticas económicas adotadas que visavam a valorização da pesca tradicional.

A aquacultura em Portugal surgiu por volta de 1970, mas só a partir de 1980, é que se verificou um maior aumento na produção, atingindo um máximo sensivelmente em 1986 (Fig. 3). Recentemente tem-se mantido constante, porém em 2010 apresentou uma quebra significativa, tendo passado dos cerca de 7 000 toneladas em 2009 para cerca de 3 500 toneladas em 2010 (DGRM).

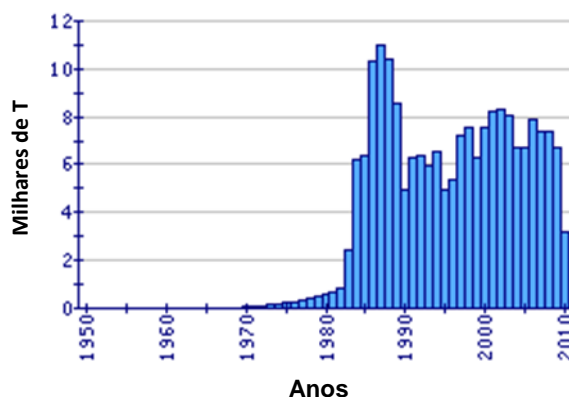


Figura 3 - Evolução da produção em Aquacultura em Portugal.

Adaptado de DGRM.

Segundo dados recolhidos pelo instituto Nacional de Estatística (INE), a produção em aquacultura em 2012 foi de cerca de 10 317 toneladas e originou uma receita rondando os 54 milhões de euros para a economia portuguesa. Estes valores indicam que houve, comparativamente com o ano de 2011, um aumento na quantidade comercializada (+12,2 %) mas um decréscimo no valor (-8,2 %), justificado principalmente pela diminuição dos preços médios de venda de certas espécies de moluscos, nomeadamente da amêijoia (INE, 2013).

A aquacultura em Portugal foca-se principalmente na produção de espécies em águas salobras e marinhas, sendo que em 2012 as espécies cultivadas nessas águas contribuíram para cerca de 95,4 % da produção nacional. Nestas águas prima-se pelo cultivo de dourada e pregado (representam 89,6 % da produção nestas águas). Também se produzem moluscos bivalves (38,0 % da produção total), sendo as amêijoas a espécie mais importante (INE, 2013).

Note-se que em 2010, os moluscos (32 %) foram as espécies mais produzidas em aquacultura em Portugal, seguidos da truta (12 %) e da dourada (11 %) (fig. 4).

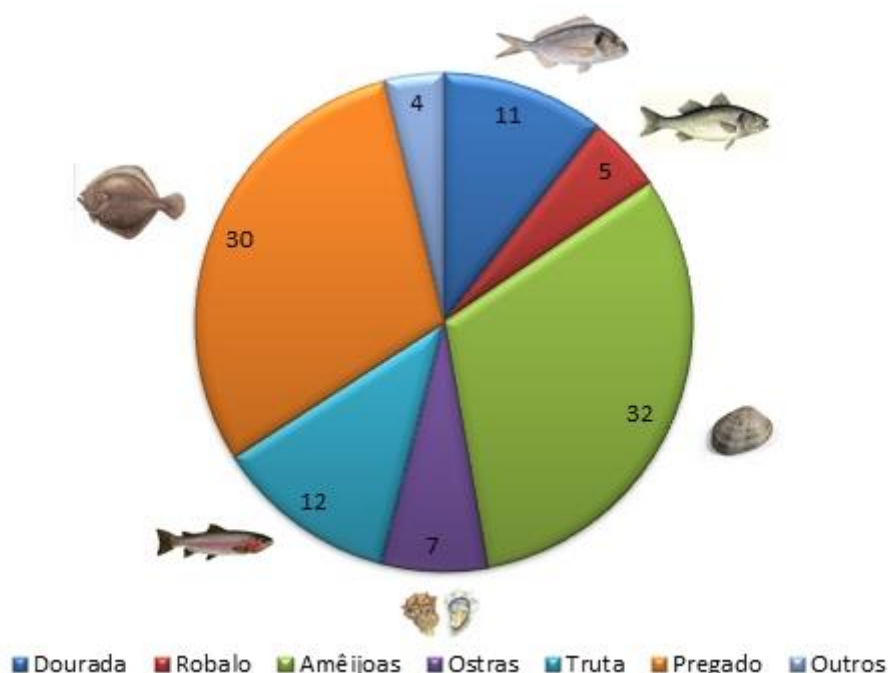


Figura 4 - Principais espécies produzidas em aquacultura, em Portugal, em 2010.

Adaptado de INE, 2010.

O quadro 2 indica de uma forma global as principais espécies cultivadas em aquacultura, no território nacional.

Quadro 2 - Principais espécies produzidas em Portugal.

Nome em Português	Nome em Inglês	Nome científico
Truta arco iris	Rainbow Trout	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Truta comum	Brown trout	<i>Salmo trutta</i>
Amêijoia boa	Clam	<i>Ruditapes decussatus</i>
Amêijoia macha	Carpetshell	<i>Venerupis pullastra</i>
Berbigão	Cockle	<i>Cerastoderma edule</i>
Choco	Cuttlefish	<i>Sepia Officinalis</i>
Dourada	Seabream	<i>Sparus aurata</i>
Enguia	Eel	<i>Anguilla anguilla</i>
Linguado	Sole	<i>Solea spp</i>
Longueirão curvo	Pod razor	<i>Pharus legumen</i>
Longueirão direito	Sword razor	<i>Ensis spp</i>
Mexilhão	Mussel	<i>Mytilus spp</i>
Ostra portuguesa	Portuguese cupped oyster	<i>Crassostrea spp</i>
Ostra	Cupped oyster	<i>Ostrea spp</i>
Pregado	Turbot	<i>Psetta maxima</i>
Robalo	Seabass	<i>Disentrarchus labrax</i>
Sargo	White seabream	<i>Diplodus sargus</i>
Tainha	Mullet	<i>Mugil spp/ liza spp</i>

Adaptado de DGRM.

1.2. A Corvina

A corvina, *Argyrosomus regius*, é um peixe teleósteo que pertence à família *Sciaenidae*, sendo um dos seus maiores membros. Apresenta uma ampla distribuição geográfica, podendo encontrar-se no mar mediterrâneo, no mar negro, na costa atlântica da Europa e na costa este do continente Africano (Fernandes, 2013). Há que referir que, tanto na costa grega como na italiana, não é muito frequente encontrar esta espécie. Ela pode estar tanto em águas profundas como em águas superficiais, variando entre os 15 e os 200 m de profundidade (FAO, 2014).

A corvina pode crescer até aos 2 metros e pesar mais de 50 kg. O seu crescimento é mais acentuado durante o verão, uma vez que temperaturas inferiores a 13-15 °C diminuem a sua alimentação e consequentemente o seu desenvolvimento (FAO, 2014).

A desova realiza-se no final do mês de Maio e, durante essa época, as corvinas aproximam-se dos estuários. Por volta de meados de Junho e até ao final de Julho elas deixam os estuários para adquirirem alimento ao longo da costa. Mantêm-se em águas superficiais até o início do outono e, a partir dessa altura e durante todo o inverno regressam às regiões mais profundas (FAO, 2014).

Na Europa a corvina selvagem é um peixe que existe principalmente no sul da Península Ibérica e na costa oeste da França, e é muito apreciado pelas populações locais (Monfort, 2010).

Atualmente é uma espécie que tem vindo a ser muito utilizada em aquacultura, principalmente nos países Europeus. Os primeiros países a criá-la em cativeiro foram, simultaneamente, a França e a Itália, na década de 90. Em 2004 foi a vez da Espanha entrar neste mercado, e em 2007 entraram a Grécia e a Turquia (Monfort, 2010).

O crescente interesse da exploração deste peixe em aquacultura advém de três fatores que se complementam: as suas características adaptativas, as suas características organoléticas, a facilidade de penetração no mercado associado ao custo de produção. Deste modo, o primeiro engloba a sua capacidade adaptativa a diversos ambientes (tolera grandes variações de salinidade e de temperatura das águas) e de tolerar o aprisionamento. Consegue apresentar elevadas taxas de crescimento e bons níveis de conversão de alimento, mesmo estando em tanques de terra com água salobra, consegue apresentar uma elevada taxa de sobrevivência aquando a fase larvar (Amoedo, 2011; Monfort, 2010). Já o segundo resulta da sua forma atrativa, do seu elevado rendimento quando processada, do seu elevado valor nutricional, do baixo teor lipídico quando comparada com outras espécies (1,5 - 4 %), e também do seu paladar (Amoedo, 2011; Martelli *et al.*, 2013; Monfort, 2010, Poli *et al.*, 2003). O terceiro refere-

se ao baixo preço de comercialização: o peixe inteiro pode ser vendido a um preço que varia entre 6 a 10 euros /kg, já se for comercializado em filetes o preço atinge 10 a 15 euros /kg de filete (Monfort, 2010).

No que se refere ao teor lipídico, este é um aspeto de grande importância neste peixe, uma vez que, mesmo apresentando um baixo teor (é classificado como sendo um peixe magro), vários estudos indicam que a corvina é um peixe que apresenta quantidades significativas de ácidos gordos polinsaturados, nomeadamente EPA e DHA. Estes apresentam benefícios comprovados para a saúde humana quando ingeridos (Mesa *et al.*, 2014; Poli *et al.*, 2003).

A qualidade do peixe em fresco é muito valorizado não só pela sua riqueza em ácidos gordos polinsaturados, mas também pelo seu elevado teor proteico. Este peixe pode ser comercializado com diferentes massas, mas consoante a massa irá apresentar preços diferentes e a forma de comercialização poderá ser diferente. Os peixes maiores poderão ser vendidos em filetes ou inteiros, já os de menor massa são apenas vendidos inteiros (Monfort, 2010).

Consoante o tamanho/ massa, os peixes apresentarão, consequentemente, características diferentes, nomeadamente no que se refere à quantidade de proteína e à quantidade de gordura. Pela quadro 3 verifica-se que o tamanho e consecutivamente a massa influenciam em muito o teor lipídico, peixes com uma massa de 0,65 kg apresentaram um teor lipídico de 1,68 g/100 g de parte edível, enquanto que os peixes maiores (4,83 kg) tiveram um teor de 4,18 g/100 g de parte edível.

Quadro 3 - Composição Nutricional de Corvinas de Aquacultura.

	Mínimo	Máximo
Massa (kg)	0,65	4,83
Comprimento (cm)	43	84
Humidade (g)	72,69	76,1
Proteína (g)	19,14	21,71
Cinza (g)	1,12	0,35
Lípidos Totais (g)	1,68	4,18
Ácidos Gordos (% total)		
Saturados	29,29	30,41
Monoinsaturados	26,28	30,82
Polinsaturados	34,48	39,16
n-3	20,7	26,72
n-6	11,71	13,79
n-3/n-6	1,5	2,15

Adaptado de Orben *et al.*, 2008.

Mesa *et al.* (2014) num estudo realizado em corvinas de aquacultura, o qual durou cerca de 500 dias, demonstraram que, ao longo de toda a experiência o peixe em questão apresentou, no seu músculo, um teor mais elevado de ácidos gordos insaturados comparativamente com os ácidos gordos saturados. O ácido gordo saturado predominante foi o ácido palmítico (16:0). Dentro dos insaturados, a percentagem de MUFA e PUFA variou ao longo do tempo. O monoinsaturado que se destacou foi o ácido oleico (18:1 n-9), já no caso dos polinsaturados, a tendência variou. Os que se destacaram foram o ácido linoleico (18:2 n-6), o EPA (20:5 n-3) e o DHA (22:6 n-3) (Mesa *et al.*, 2014).

O quadro 4 apresenta a composição nutricional desta espécie, segundo um estudo realizado, durante o inverno de 2012, tanto em corvinas de aquacultura como selvagens, com cerca de um ano de idade.

Quadro 4 - Composição do músculo da Corvina produzida em Aquacultura e Selvagem.

	Corvina Aquacultura	Corvina Selvagem
Humidade (%)	75,06±0,67 ^a	76,43±1,70 ^a
Cinza (%)	1,27±0,11 ^a	1,25±0,12 ^a
Teor de Lípidos (%)	1,75±0,04 ^a	1,36±0,05 ^b

Adaptado de Sinanoglou *et al.*, 2014.

As corvinas produzidas em aquacultura pesavam cerca de 1 344±80 g, já as selvagens pesavam aproximadamente 1 421±53 g. Os resultados obtidos no ensaio demonstram que, no que se refere à riqueza em gordura, ambas apresentam um teor semelhante.

Em aquacultura pretende-se que a espécie a ser cultivada, neste caso a corvina, apresente boas taxas de crescimento, boas taxas de conservação de alimento e poucas perdas. Deste modo, pretende-se dar ao animal a melhor ração para que se consiga atingir este objetivo. No caso da corvina, alguns estudos evidenciaram que a ração deverá apresentar um teor proteico de cerca de 45 % e um teor lipídico igual ou superior a 15 %. É importante salientar que a ração será a fonte de aminoácidos e de ácidos gordos essenciais para o crescimento e desenvolvimento do animal, o que faz com que tenha que ser muito bem estudada e adaptada a cada uma das espécies. Contrariamente ao que se poderá considerar, valores muito elevados de lípidos não irão contribuir benéficamente para o crescimento do animal. Existe um valor máximo ótimo e, se se ultrapassar este limite o crescimento poderá ser retardado e o teor lipídico do mesmo poderá aumentar demasiado (Fernandes, 2013).

1.3. Os Lípidos

1.3.1. Designação

Os lípidos são compostos solúveis em solventes orgânicos, normalmente constituídos por ácidos gordos esterificados a um álcool, no caso dos acilgliceróis, ou esterificados a um grupo amino no caso dos esfingolípidos. Este grande grupo pode ser dividido em dois sub-grupos: lípidos polares, cujo componente com maior interesse e predominante são os fosfolípidos e lípidos não polares, constituídos principalmente por triacilgliceróis (TAG) (Tocher, 2003; Nelson *et al.*, 2004).

As unidades básicas de qualquer composto lipídico são os ácidos gordos. Estes podem ser classificados consoante o tamanho da cadeia e a presença ou ausência de duplas ligações (insaturações). Deste modo, existe uma grande variedade de ácidos gordos, desde ácidos gordos de cadeia curta (2 a 10 átomos de carbono), média (12 a 16 átomos de carbono) e longa (18 a 24 átomos de carbono), ácidos gordos saturados (sem dupla ligação, SFA), ácidos gordos monoinsaturados (com uma dupla ligação, MUFA) e ácidos gordos polinsaturados (com duas ou mais duplas ligações, PUFA) (Tocher, 2003).

Os ácidos gordos saturados não possuem duplas ligações e são sólidos à temperatura ambiente. Uma dieta rica nestes compostos está frequentemente associada a problemas de saúde relacionada com a excessiva produção de colesterol. Como ácidos gordos saturados predominantes nos animais temos o palmítico (16:0) e o esteárico (18:0), podendo existir muitos outros dentro da gama dos C12 e do C24. Restringindo apenas aos animais marinhos, os ácidos gordos saturados que se destacam são, em regra, o mirístico (14:0), o palmítico e o esteárico, sendo que normalmente o palmítico é o mais abundante (Nunes *et al.*, 2003)

Os ácidos gordos insaturados (quadro 5) são líquidos à temperatura ambiente e possuem pelo menos uma dupla ligação. Dentro dos MUFA, o que apresenta um maior destaque nos peixes é o ácido oleico (18:1 n-9). Já nos PUFA os ácidos gordos principais são os que pertencem à família dos ómega-6 e ómega-3. Nos ómega-6 destacam-se os ácidos linoleico (18:2 n-6) e o araquidónico (20:4 n-6). Nos ómega-3 evidencia-se o EPA (20:5 ω -3) e o DHA (22:6 ω -3), sendo este último o mais abundante na maioria dos casos.

Quadro 5 - Principais ácidos gordos insaturados para a saúde humana.

	Tipo de ligação	Estrutura	Nome sistemático	Nome comum
MUFA	14:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ácido <i>cis</i> -9-tetradecenóico	Ácido miristoleico
	16:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ácido <i>cis</i> -9-hexadecenóico	Ácido palmítico
	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Ácido <i>cis</i> -9-octadecenóico	Ácido oleico
PUFA n-3	18:3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Ácido <i>cis-cis-cis</i> -9, 12, 15-octadecatrienóico	Ácido linolénico (ALA)
	20:5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Ácido <i>all-cis</i> -5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenóico	EPA
	22:6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_6(\text{CH}_2)\text{-COOH}$	Ácido <i>all-cis</i> -4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexanóico	DHA
PUFA n-6	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Ácido <i>cis-cis</i> -9, 12-octadecadienóico	Ácido linoleico (LA)
	20:4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Ácido <i>all-cis</i> -5, 8, 11, 14-eicosatetraenóico	Ácido araquidónico (AA)

Adaptado de Campos, 1999.

Analisando os peixes verifica-se que as espécies gordas tendem a apresentar uma maior quantidade de cadeias longas ómega-3 quando comparadas com as espécies magras. Os PUFA tendem a ser o grupo dominante, existindo algumas exceções como é o caso da corvina e do peixe-espada preto, onde o conteúdo em MUFA é superior ao PUFA. No caso da quantidade de SFA, em percentagem, esta mantém-se normalmente constante em quase todas as espécies (Nunes *et al.*, 2011).

1.3.1.1. Lípidos não polares

Como referido anteriormente, os TAG constituem a maior classe dentro dos lípidos não polares e são constituídos por três cadeias de ácidos gordos esterificadas a um glicerol. Quando esterificado, as posições onde se encontram os ácidos gordos são designadas por sn1, sn2 (posição que se encontra no meio) e sn3. É de salientar que os TAG podem ser constituídos apenas por um único tipo de ácido gordo, ou então podem ser constituídos por 2 tipos, ou, em último caso, por 3 (glicerol esterificado com 3 ácidos gordos diferentes). Nos peixes, os ácidos gordos saturados e insaturados encontram-se preferencialmente nas posições sn1 e sn3, enquanto que os polinsaturados localizam-se na posição sn2 (Nelson *et al.*, 2004; Tocher, 2003).

Dentro do grupo dos lípidos não polares também existem as ceras, que são constituídas por uma molécula de álcool ligada a um ácido gordo. Este grupo encontra-se presente em grandes quantidades no zooplâncton, a fonte de alimento do peixe, pelo que poderá afetar o teor lípido deste animal (Nelson *et al.*, 2004; Tocher, 2003).

1.3.1.2. Lípidos Polares

No que diz respeito aos lípidos polares é imprescindível falar dos fosfolípidos, uma vez que estes são a classe predominante. São caracterizados por possuírem um álcool ligado, por uma ponte fosfodiéster, a um diacilglicerol ou a uma esfingosina. Se a ligação for a um diacilglicerol designa-se por fosfoglicérido se for a esfingosina denomina-se por esfingolípidos. É de salientar que, ainda dentro dos fosfoglicéridos, se o ácido fosfatídico, que é o fosfoglicérido mais simples e serve como precursor dos restantes fosfolípidos, se ligar a uma serina, etanolamina, colina, inositol ou glicerol dará origem a fosfoglicéridos com nomes diferentes (Tocher, 2003).

1.3.2. Os Lípidos no pescado

Os lípidos, juntamente com as proteínas, são os componentes orgânicos maioritários nos peixes. Eles desempenham um papel importante no que diz respeito ao armazenamento e transporte de energia, à formação das membranas celulares, à manutenção da estrutura e integridade do animal e, por fim, ao transporte de vitaminas lipossolúveis (ADEK) (Nunes *et al.*, 2011).

Dependendo da espécie a que diz respeito e mesmo dentro da mesma espécie, existem grandes variações quanto ao teor lipídico, resultantes de diversos fatores, entre os quais as condições ambientais em que se encontram, o tipo de dieta que consomem, a disponibilidade de alimento, a época do ano e a própria maturidade do animal (Tocher, 2003; Nunes *et al.*, 2011). Sendo assim, os peixes tendem a ser classificados como:

- Espécies gordas (> 5 %) – salmão, sardinha, cavala, cherne, dourada, enguia;
- Espécies semi - gordas (2 a 5 %) – atum, besugo, carapau, espadarte, goraz, peixe-espada-branco, peixe-espada-preto, robalo, safio;
- Espécies magras (< 2 %) – pescada, bacalhau, corvina, linguado, pargo, tamboril. (Nunes *et al.*, 2008).

No que diz respeito ao local onde a gordura é depositada, nos peixes, contrariamente ao que se verifica nos animais terrestres, onde esta é armazenada preferencialmente no tecido adiposo, a gordura fica retida no fígado, nos músculos, nos tecidos subcutâneos e na zona visceral (Nunes *et al.*, 2011). No músculo os lípidos presentes são essencialmente fosfolípidos e TAG, podendo também existir, mas em menor quantidade, esteróis. Há que referir que nas espécies magras os fosfolípidos têm um maior contributo para o teor lipídico total (cerca de 90%), já os TAG contribuem com cerca de 1 a 2 % (Kolakowska *et al.*, 2003).

1.3.3. Digestão, absorção e transporte dos lipídios nos peixes

Após ter-se algum conhecimento sobre o que são os lipídios, a sua constituição e a sua importância no organismo dos peixes, falta compreender como é que os peixes conseguem digerir, absorver e transportar estes compostos complexos no seu organismo. Os lipídios são macromoléculas e como tal, terão que ser degradados em compostos menores para que consigam ser absorvidos e transportados, no interior do organismo. Só assim é que a gordura poderá ser utilizada como fonte de energia para o peixe ou como lipídios de reserva. Apesar de os peixes serem animais com características muito diferentes dos mamíferos, vários estudos indicam que os processos de digestão, absorção e de transporte são semelhantes (Rotta, 2003; Tocher, 2003).

A primeira etapa que o alimento sofre quando ingerido pelo peixe é a digestão. Esta atividade lipolítica ocorre essencialmente na parte proximal do intestino e no ceco pilórico, se existente. Em alguns casos pode ainda estender-se para as partes inferiores do intestino, sendo que a sua atividade diminui progressivamente (Rotta, 2003; Tocher, 2003).

As enzimas que entram neste processo são de origem essencialmente pancreática. No caso dos triacilgliceróis, a sua digestão pode resultar da ação de duas lipases: triacilglicerol acil-hidrolases, (EC 3.1.1.3) e de outra lipase que tem menor afinidade com os sais biliares (EC 3.1.1.1.). Vários estudos demonstram que, nos peixes teleósteos, as lipases predominantes são aquelas que necessitam da presença de sais biliares para que possam realizar a sua atividade lipolítica. Claro está, que como este tema ainda se encontra muito pouco estudado, é de se esperar que, futuramente, possam ser descobertas outras enzimas (Tocher, 2003).

A digestão completa dos triacilgliceróis resulta, deste modo, na libertação de 3 ácidos gordos e de um acilglicerol.

No caso dos fosfolípidos, estes constituem grande parte da dieta lipídica dos peixes, pelo que são importantes como fonte de ácidos gordos. Contudo, a digestão destes compostos encontra-se igualmente muito pouco estudada, apesar de se acreditar que é semelhante à dos mamíferos. Assim, a digestão deverá ser levada a cabo por enzimas pancreáticas e intestinais, resultando da formação de um acil lisoglicerofosfolípido e de ácidos gordos livres que serão absorvidos pelas células da mucosa intestinal (Tocher, 2003; Sargent *et al.*, 1993).

Com o fim da digestão, muitos compostos foram degradados nos seus compostos estruturais originando assim: acil gliceróis, predominantemente 2-monoacilgliceróis,

mas também diacilgliceróis e glicerol resultante da digestão dos triacilgliceróis, 1-acil-lisoglicerofosfolípido da digestão dos fosfoglicéridos e colesterol e longas cadeias de álcoois derivadas da hidrólise do colesterol e das ceras, respetivamente. Estes compostos então formados já se encontram capazes de serem absorvidos pelo organismo do animal em estudo. É importante referir que a absorção pelos peixes ainda não é muito conhecida, pelo que, tal como na digestão, presume-se que é semelhante à dos mamíferos. Assim, os produtos hidrolisados são solubilizados ou emulsionados pelas micelas dos sais biliares, e são difundidos para a mucosa intestinal onde são captadas pelos enterócitos. Acredita-se que esta absorção realiza-se mais lentamente nos peixes do que nos mamíferos, devido à baixa temperatura corporal destes animais. A etapa de absorção ocorre principalmente na parte proximal do intestino, região onde se evidencia uma maior atividade lipolítica (Tocher, 2003).

Após a absorção, no retículo endoplasmático liso (REL) das células da mucosa intestinal, a maior parte dos ácidos gordos e os monoacilgliceróis são novamente convertidos em triacilgliceróis e em fosfolípidos. Estas partículas, novamente formadas, reagem com proteínas existentes no REL, formando partículas denominadas por quilomicrons, que permitem a passagem, numa primeira fase, para a linfa e, numa segunda fase, para a corrente sanguínea, dos compostos anteriormente formados (TAG e fosfolípidos). Na corrente sanguínea os quilomicrons separam-se dos TAG, uma vez que são demasiado grandes para penetrarem nos vasos capilares. De seguida e já sem os quilomicrons, os TAG e os fosfolípidos são novamente hidrolisados e, uma parte dos ácidos gordos libertados, será utilizado como fonte de energia para o metabolismo do peixe, enquanto que outra será novamente reestirificada no retículo endoplasmático rugoso (RER), e transportada por apoproteínas para outros órgãos (Nelson *et al.*, 2004; Rotta, 2003; Tocher, 2003).

Estas apoproteínas variam consoante o tamanho, estrutura e razão lípidos:proteína, sendo que os lípidos não polares elegem, por ordem de preferência, os quilomicrons, VLDL, LDL e HDL, e os lípidos polares, em oposição, preferem os HDL, LDL, VLDL e os quilomicrons (Tocher, 2003; Nelson *et al.*, 2004).

1.3.4. Metabolismo dos Lípidos nos peixes

A maior parte da gordura que o peixe contém no seu organismo advém da dieta que consome ou que lhe é administrada. Contudo, uma pequena fração pode provir de um conjunto de reações de biossíntese, ocorrentes no organismo do animal, que contribuem para a formação de lípidos endógenos. A este processo dá-se o nome de lipogénese. Para a biossíntese da gordura é necessário uma fonte de carbono, que pode derivar da

acetil-coA, formada a partir da descarboxilação oxidativa do ácido pirúvico (fonte de carbono), nas mitocôndrias. Todas estas reações em cadeia necessitam da presença de um complexo multi-enzimático – citosol ácido gordo sintase (FAS) (Sargent *et al*, 2002; Sargent *et al.*, 1993; Tocher, 2003).

Há que salientar que, alguns peixes (predadores e de origem marítima), como a sua dieta é rica em gordura, na qual grande parte são ácidos gordos essenciais, não necessitam de produzir novos ácidos gordos logo, todo o processo de lipogénese encontra-se muito pouco desenvolvido. No caso dos peixes de água doce tal não se verifica, visto que o alimento que consomem não consegue suprir todas as necessidades em termos destes ácidos. Assim, este tipo de peixe tem a capacidade de modificar os lípidos que adquirem na dieta e, consequentemente, produzir novos lípidos, através da ação de enzimas, que alongam ou encurtam a cadeia carbonada, e inserem duplas ligações (Sargent *et al.*, 2002; Tocher, 2003).

Como referido, para a produção de novos ácidos gordos é necessária uma fonte de carbono, que poderá derivar tanto de proteínas como de glúcidos disponíveis no alimento. Esta escolha dependerá do constituinte que se encontra em maior quantidade na ração (Tocher, 2003).

A síntese é máxima aquando da ingestão de alimento pelo peixe, uma vez que, nessa altura, a energia proveniente da dieta excede o gasto energético do organismo. A síntese dos ácidos gordos é favorecida pela disponibilidade dos substratos (Acetil- CoA e do NADPH, provenientes do metabolismo da glucose) e pela ação da enzima acetil-CoA carboxilase que catalisa a formação de malonil-CoA a partir da acetil-CoA (Tocher, 2003;).

Quando existe um excesso de ácidos gordos no organismo do peixe, estes são convertidos em TAG (fig. 5), para que possam ser armazenados e, mais tarde, quando necessário, sejam utilizados como fonte de energia. Deste modo, o excesso destes compostos são convertidos em TAG, no fígado, e transportados por lipoproteínas (VLDL) para os tecidos de reserva, tecido adiposo (principalmente) e músculo (Nelson *et al.*, 2004).

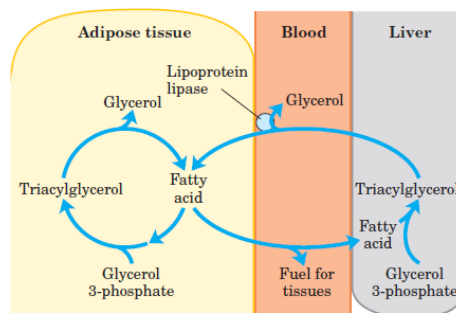


Figura 5 - Ciclo dos triacilgliceróis.

Fonte: Nelson *et al.*, 2004.

1.3.5. Biossíntese de ácidos gordos monoinsaturados

A biossíntese de ácidos gordos monoinsaturados ocorre no retículo endoplasmático das células através de processos aeróbicos. Estes são produzidos pela incorporação de uma dupla ligação nos ácidos gordos saturados, que já existem no peixe. Os MUFA produzidos apresentam um ponto de ebulição inferior aos ácidos gordos que lhe deram origem, resultante da insaturação (Tocher, 2003).

Como exemplo de ácidos gordos monoinsaturados produzidos a partir de saturados, temos o 16:1 n-7 (ácido palmitoleico) e o 18:1 n-9 (ácido oleico), que derivam do 16:0 e do 18:0, respetivamente (Tocher, 2003).

No que diz respeito à biossíntese de monoinsaturados a partir de outros monoinsaturados, muito pouco se sabe. Não existem muitos estudos que expliquem o alongamento da cadeia carbonada do 16:1 n-7 e do 18:1 n-9 para a produção de 18:1 n-7, 20:1 n-9, 22:1 n-9 e 24:1 n-9 (Tocher, 2003).

1.3.6. Biossíntese de ácidos gordos polinsaturados

Para a produção de ácidos gordos polinsaturados é necessário a presença de certas enzimas. Como em todos os vertebrados, incluindo os peixes, as enzimas necessárias para a síntese dos ácidos gordos 18:2 n-6 (ácido linoleico) e 18:3 n-3 (ácido linolénico) a partir do 18:1 n-9, encontram-se em falta, logo estes só poderão provir da alimentação dos animais, tornando-se, assim, ácidos gordos essenciais. Por sua vez, ao existirem no organismo dos peixes, poderão ser insaturados e alongados para a formação dos PUFA C20 e C22 - 20:4 n-6 (ácido araquidónico), 20:5 n-3 (EPA) e 22:6 n-3 (DHA). A quantidade de cada ácido gordo produzido irá depender da performance das enzimas em causa: $\Delta 6$ e $\Delta 5$ elongases e desaturase (Tocher, 2003; Sargent *et al.*, 2013).

As reações de biossíntese ocorrem no fígado, e o mesmo conjunto de enzimas participa tanto na produção dos ácidos gordos n-3 como dos n-6, sendo que existem diferentes

afinidades para cada um: as desaturases dão preferência aos ácidos gordos n-3 comparativamente com os n-6 (Tocher, 2003; Sargent *et al.*, 1993).

Na figura 6, encontra-se descrita esquematicamente a biossíntese dos ácidos gordos polinsaturados, indicando as enzimas que participam e todo o caminho que origina a formação do 22:5 n-6; 22:6 n-3 e 20:3 n-9. Deste modo, pode-se constatar que o 22:6 n-3 é produzido a partir do 18:3 n-3 e o 20:4 n-6 é o principal produto final do 18:2 n-6. Claro está que, o ácido gordo 20:4 n-6 poderá ainda ser transformado e originar outros ácidos gordos (Tocher, 2003).

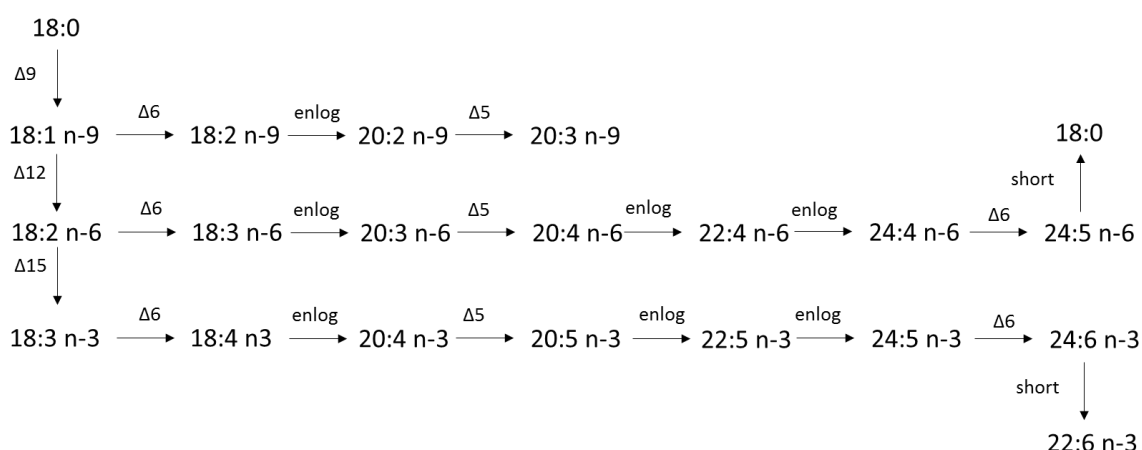


Figura 6 - Biossíntese dos ácidos gordos essenciais.

Adaptado de Tocher, 2003.

Através dos vários estudos que têm sido realizados ao longo dos anos referentes ao teor lipídico e ao perfil dos ácidos gordos de uma vasta gama de peixes, pode verificar-se que os animais em causa acumulam preferencialmente o ácido gordo DHA comparativamente com o 22:5 n-6. Tal facto pode ser explicado pela especificidade das enzimas envolvidas, que preferem os ácidos gordos n-3, como anteriormente referido (Tocher, 2003).

1.3.7. Fatores que influenciam o perfil de ácidos gordos nos peixes

O perfil de ácidos gordos varia de espécie para espécie e até mesmo entre indivíduos da mesma espécie, uma vez que é muito influenciado por fatores fisiológicos/endógenos e ambientais. Deste modo, é possível, no caso dos peixes produzidos em aquacultura, manipular, através da dieta ou até mesmo das condições ambientais, o perfil em ácidos gordos de acordo com o pretendido. O próprio tamanho do peixe faz variar a sua composição lipídica: peixes da mesma espécie mas com tamanhos diferentes revelam perfis em ácidos gordos diferentes (Chatzifotis *et al.*, 2010).

A maior parte dos peixes cultivados em aquacultura são alimentados com uma dieta muito rica em lípidos, de forma a maximizar o crescimento do animal. Assim sendo, torna-se evidente que ao se compararem estas espécies com as espécies selvagens verificar-se-á que existe um teor de lípidos totais superior. Como referido, o perfil de ácidos gordos reflete em muito a alimentação do animal, logo, como as rações são frequentemente ricas em ácidos gordos insaturados, é natural que o próprio peixe também apresente essa preponderância.

Dentro dos fatores ambientais, a temperatura é a condição que mais afeta o peixe. No caso dos peixes teleósteos, eles tentam combater este stresse térmico (baixas temperaturas) com o aumento das insaturações nos ácidos gordos da membrana fosfolipídica. Tal facto foi evidenciado por Trueman *et al.*, em 2000, no seu estudo com carpas, as quais foram sujeitas a temperaturas progressivamente inferiores- 30, 23, 17 e 10 °C. Também Hsieh *et al.*, em 2002, verificaram que as baixas temperaturas alteram a composição da membrana fosfolipídica no peixe-gato. Este peixe pertence ao grupo dos peixes teleósteos e desenvolve-se melhor em águas quentes, como tal, ao ser colocado em água a baixas temperaturas (15 °C), desenvolve um mecanismo de defesa que o permite combater este stresse térmico. Deste modo, o estudo em causa comprovou o aumento da atividade de uma enzima (*stearoyl-CoA desaturase*) responsável pela produção de insaturações nos ácidos gordos (Hsieh *et al.*, 2002).

A temperatura das águas varia consoante a época do ano, como tal, é natural que, dependendo dos meses (época fria ou época quente) os peixes exibam um perfil em ácidos gordos diferente.

Numa experiência realizada com a espécie de tubarão-salmão (*Lamna ditropis*) pretendeu determinar-se de que forma o sexo e a época do ano influenciaria a composição em ácidos gordos da espécie em questão. Verificou-se que a diferença de género (masculino e feminino) não contribuía para variar significativamente ($p\text{-value} < 0,05$) o perfil mas, no caso da época do ano, evidenciou-se algumas modificações. Enquanto que, por um lado, o teor lipídico presente no peixe revelou ser superior no Inverno, os PUFA, compostos maioritários do fígado deste animal, obtiveram valores menores nessa estação do ano. Relativamente ao teor lipídico, os autores explicaram o aumento no inverno devido ao facto deste peixe ser um peixe migratório. Ele armazena gordura no fígado para que na altura da migração tenha reservas de energia. Por outro lado, a alimentação no inverno também é um aspeto que contribui para este aumento. Primeiramente, é necessário referir que o peixe em causa é uma espécie carnívora, que se alimenta de outros peixes (salmão, sardinhas, etc). No inverno

verifica-se que os animais que lhe servem de alimento apresentam um maior teor lipídico, logo é normal que isso o afete em termos de gordura (Jayasinghe *et al.*, 2003).

No que diz respeito ao teor em ácidos gordos, o aumento dos PUFA no verão pode advir do facto deste peixe ser uma espécie que utiliza preferencialmente os ácidos gordos SFA e MUFA na produção de energia e atividade metabólica, permitindo a acumulação de PUFA como lípidos de reserva na forma de TAG. Se olhássemos apenas para a variação de PUFA, poderíamos considerar que este resultado não iria corroborar a anterior afirmação, em que nos meses frios ocorre um aumento do número de insaturações, resultante do facto destes ácidos gordos serem mais fluídos. Contudo, tal não se constata, uma vez que quando se observa o teor de MUFA verifica-se que este aumentou significativamente no Inverno. (Jayasinghe *et al.*, 2003).

É imperativo mencionar que, apesar dos peixes poderem possuir comportamentos diferentes consoante a temperatura, este fator, tal como foi demonstrado, influencia em muito a eficiência do metabolismo dos peixes. Se o ambiente estiver a uma temperatura inferior à ótima para o peixe, o seu metabolismo tende a torna-se mais lento, e o animal consome menos alimento. Em contrapartida, se a temperatura for superior, o metabolismo acelera e o peixe tem a necessidade de adquirir mais alimento (Stickney *et al.*, 1994).

Quanto à alimentação é natural que esta seja um fator que muito influencie a composição lipídica dos peixes e vários estudos demonstraram a sua importância.

Num estudo com sardinhas Japonesas pretendeu-se determinar se existia alguma relação entre a composição lipídica das sardinhas com o alimento disponível (plâncton). Como existiam algumas variações, ao longo do ano, na composição do plâncton pretendeu-se estudar esta correlação ao longo de um ano. Obteve-se então que o conteúdo lipídico foi mínimo em Fevereiro (1,8%) e máximo entre Julho e Setembro (7,2%); os ácidos gordos maioritários foram os mesmos tanto no plâncton como nas sardinhas durante toda a experiência (14:0; 16:0; 18:0; 16:1 n-7; 18:1 n-9; 20:5 n-3; 22:6 n-3); o perfil de ácidos gordos em Julho, nas sardinhas, foi semelhante ao do plâncton, logo pode-se concluir que a dieta influencia em muito o perfil em ácidos gordos do peixe (Shirai *et al.*, 2002).

1.4. Benefícios do consumo de pescado na saúde humana

Atualmente verifica-se um interesse acrescido, por parte do mundo científico, em compreender o papel dos ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa n-3, EPA e DHA, e n-6, na saúde humana. Estes ácidos gordos são frequentemente denominados de ácidos gordos fundamentais, uma vez que são maioritariamente obtidos na dieta.

Apesar do nosso organismo conseguir produzi-los, a quantidade produzida é ínfima comparativamente com as necessidades. Deste modo, pode-se afirmar que, de um modo geral, estes ácidos gordos provêm essencialmente da alimentação. Eles podem ser sintetizados, no organismo humano, a partir do ácido gordo linolénico (ALA; 18:3 n-3) e do ácido linoleico (LA; 18:2 n-6), respetivamente, através de um conjunto de reações, nas quais participam enzimas que promovem a incorporação de insaturações e o alongamento da cadeia carbonada (fig. 7). A produção de EPA e de DHA no organismo humano, para além de ser baixa, pode ser inibida pela produção do ácido araquidónico (AA 20:4 n-6), visto que ambos competem pelas mesmas enzimas (Williams, 2000).

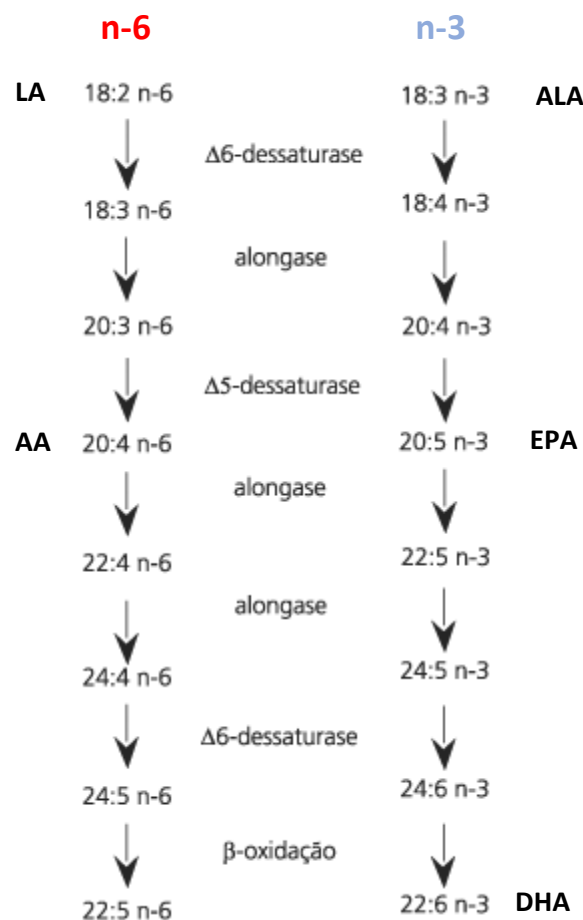


Figura 7 - Metabolismos dos ácidos gordos essenciais.

Fonte: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s1415-52732006000600011&script=sci_arttext

Vários estudos evidenciam o papel crucial que os ácidos gordos ómega-3 têm na saúde humana: ação anti-inflamatória, diminui o risco de doenças crónicas, tais como doenças cardíacas, vários tipos de cancro, artrites reumatóides, osteoporose e diabetes, importante no desenvolvimento cerebral e no desenvolvimento dos fetos. A carência nestes ácidos gordos pode, deste modo, conduzir à perda de memória, a fadiga, pele seca, problemas cardíacos e depressão (Candela, 2011; Williams, 2000; ISSFAL, 2004).

A ação preventiva que estes dois ácidos gordos apresentam, no que diz respeito a doenças cardíacas, tem vindo a ser muito estudada. Estudos realizados em animais demonstraram que a presença de EPA e DHA reduz o risco de fibrilação ventricular, e estudos executados num grupo de pessoas com problemas cardíacos (*conorary heart deseae*), evidenciaram que baixos níveis de EPA e DHA são suficientes para proteger contra esta doença. Estes resultados têm contribuído, cada vez mais, para a valorização da importância de uma alimentação rica neste tipo de ácidos gordos polinsaturados, tanto na forma de ALA como na forma de EPA/DHA (*University of Maryland Medical Center*, 2013a).

Quanto aos ácidos gordos ómega-6, estes tal como os ómega-3 ajudam nas funções cerebrais, também estimulam o crescimento celular, regulam o metabolismo, auxiliam o sistema reprodutivo e a manutenção da estrutura óssea (*University of Maryland Medical Center*, 2013b).

Uma boa forma de adquirir estes ácidos gordos (ómega-3 e ómega-6) na alimentação é através do consumo de peixes. Estes animais, ao contrário dos mamíferos, são ricos maioritariamente em ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados (*University of Maryland Medical Center*, 2013a).

A organização mundial de Saúde (WHO), com base em estudos epidemiológicos e de controlo do risco de ataques cardíacos, estabeleceu que o valor mínimo recomendável de PUFA é de 6% do total de energia ingerida (E), para que se verifique a diminuição do colesterol LDL (colesterol prejudicial para a saúde) e do colesterol total, e em oposição, o aumento da concentração do colesterol HDL (colesterol que proporciona benefícios para a saúde) e a diminuição do risco de doenças cardíacas (FAO, 2010).

Foi necessário estabelecer-se também um limite máximo deste composto orgânico, visto que estudos experimentais evidenciaram que, a partir de uma percentagem de 11% (E) da energia de consumo de PUFA, verificava-se o aumento do risco de oxidação destes lípidos. Tal contribui para a produção de compostos nefastos para a saúde. Assim, estabeleceu-se que a gama de PUFA benéfica para a saúde humana é de 6- 11 % (E) (FAO, 2010).

Recomenda-se que o consumo, para os homens e para as mulheres (que não se encontrem grávidas nem a amamentar) de EPA+DHA, seja de 0,5 g/dia e, no caso de grávidas ou lactantes o consumo deverá ser de 0,3 g/dia de EPA+DHA, sendo que o consumo de DHA tem que ser no mínimo de 0,2 g/dia (FAO,2010). Já a *American Heart Association* defende que os adultos deveriam consumir peixe pelo menos duas vezes por semana (Candela, 2011; ISSFAL, 2004).

Dados sobre o consumo de ácidos gordos n-3 indicam que na Europa o consumo de ALA varia entre os 0,6-2,5 g/dia, e que o consumo de EPA e DHA é de 0,1-0,5 g/dia. Nos EUA o consumo de EPA+DHA é de 0,1-0,2 g/dia e no Japão é superior a 2 g/dia (Candela, 2011).

A razão n-3/n-6 adquirida pela alimentação é outro aspeto de enorme importância na saúde do ser humano, principalmente nos E.U.A., uma vez que a população possui hábitos alimentares em que se consome preferencialmente alimentos ricos em ácidos gordos n-6. Logo, existe uma grande discrepância quando se compara o nível de ácidos gordos n-6 que a população americana, de um modo geral, contém no seu organismo, com o teor de n-3. Se, por um lado, os PUFA n-3 contribuem para a diminuição de inflamações, os PUFA n-6 favorecem a sua ocorrência. Claro está que, a ocorrência de inflamações é muito importante para o correto funcionamento de todos os órgãos, só que até um determinado valor. Quando estas inflamações ocorrem de forma descontrolada tornam-se prejudiciais (Brenna *et al.*, 2009; *University of Maryland Medical Center*, 2013 a).

Em muitos países, como é o caso dos Estados Unidos da América, a população tende a consumir entre 14 a 15 vezes mais ácidos gordos ómega-6 do que ómega-3. Muitos nutricionistas consideram este valor extremamente elevado e nada benéfico para a saúde. Já os países do sul da Europa (Mediterrânicos) não apresentam essa razão, valorizando na sua dieta o consumo de alimentos ricos em PUFA ómega-3, como o peixe e o azeite (*University of Maryland Medical Center*, 2013 a).

Os ácidos gordos n-3 e n-6 contribuem para a prevenção de uma vasta gama de doenças, pelo que o estabelecimento de um rácio torna-se uma tarefa difícil. Vários estudos realizados nesta área utilizando razões diferentes demonstraram que, uma percentagem mais elevada de ómega-3 contribui para evitar certa doença mas, em contrapartida poderá não ser a ótima para a prevenção de outra, ou seja, não existe um valor concreto que previna todas as doenças. É necessário adaptar-se caso a caso. Vários cientistas concordam com o facto de, atualmente, em vários países, essencialmente nos países ocidentais, o rácio ómega-6/ ómega-3 encontra-se excessivamente elevado (Candela, 2011).

2. OBJETIVOS

O objetivo da presente dissertação de mestrado centrou-se no estudo da influência da época de “abate” (Janeiro a Julho) na composição lipídica dos diferentes órgãos (fígado, gónadas e músculo) de corvina produzida em aquacultura. Na prossecução do objetivo proposto pretendeu-se dar resposta a duas questões fundamentais:

Q1: Qual dos fatores, época de abate ou tipo de tecido, mais influência a composição lipídica da corvina produzida em aquacultura (gónadas, fígado e músculo)?

Q2: Qual o órgão da corvina com maior percentagem em ácidos gordos ómega-3 e ómega-6?

Q3: O sangue e/ou plasma podem constituir indicador da composição lipídica de outros órgãos de forma a minimizar o abate de corvinas para controlo analítico?

Numa segunda parte, o estudo centrou-se numa vertente dirigida ao consumidor, no qual teve como intuito avaliar o valor nutricional do músculo da corvina em dois meses distintos, Janeiro e Junho.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho experimental incidiu sobre corvinas com uma massa de cerca de 2,5 kg, produzidas em tanques de terra no centro de investigação do IPMA sediado em Olhão, no Algarve. O estudo decorreu durante os meses de Janeiro a Julho, período que pretende abranger tanto os meses mais frios como os meses mais quentes. Durante todo o ensaio experimental a temperatura da água foi detalhadamente monitorizada (quadro 6), uma vez que, pelos tanques se encontrarem no exterior, seria natural que a mesma variasse consoante o mês, fator que poderia influenciar o metabolismo lipídico das corvinas.

Quadro 6 - Temperatura da água (°C).

Mês	Média (°C)	Desvio padrão
Janeiro	13,8	1,1
Fevereiro	14,5	1,0
Março	17,0	1,4
Abril	20,5	2,2
Maio	23,1	2,1
Junho	24,6	1,6
Julho	25,6	1,5

Realizou-se a caracterização da ração no que diz respeito ao perfil lipídico. Durante todo o estudo a ração administrada às corvinas não variou, de modo a que a época de produção fosse o único fator a variar.

3.1. Preparação da Amostra

As amostras dos diferentes órgãos a ser analisados (gónadas, fígado e músculo) foram preparadas, liofilizadas e acondicionadas em *ependorffs* no local de produção do pescado. Nas instalações analíticas do IPMA as diferentes amostras foram trituradas num almofariz e pesadas. Na figura 8 apresenta-se o plano de amostragem realizado, bem como o plano analítico.

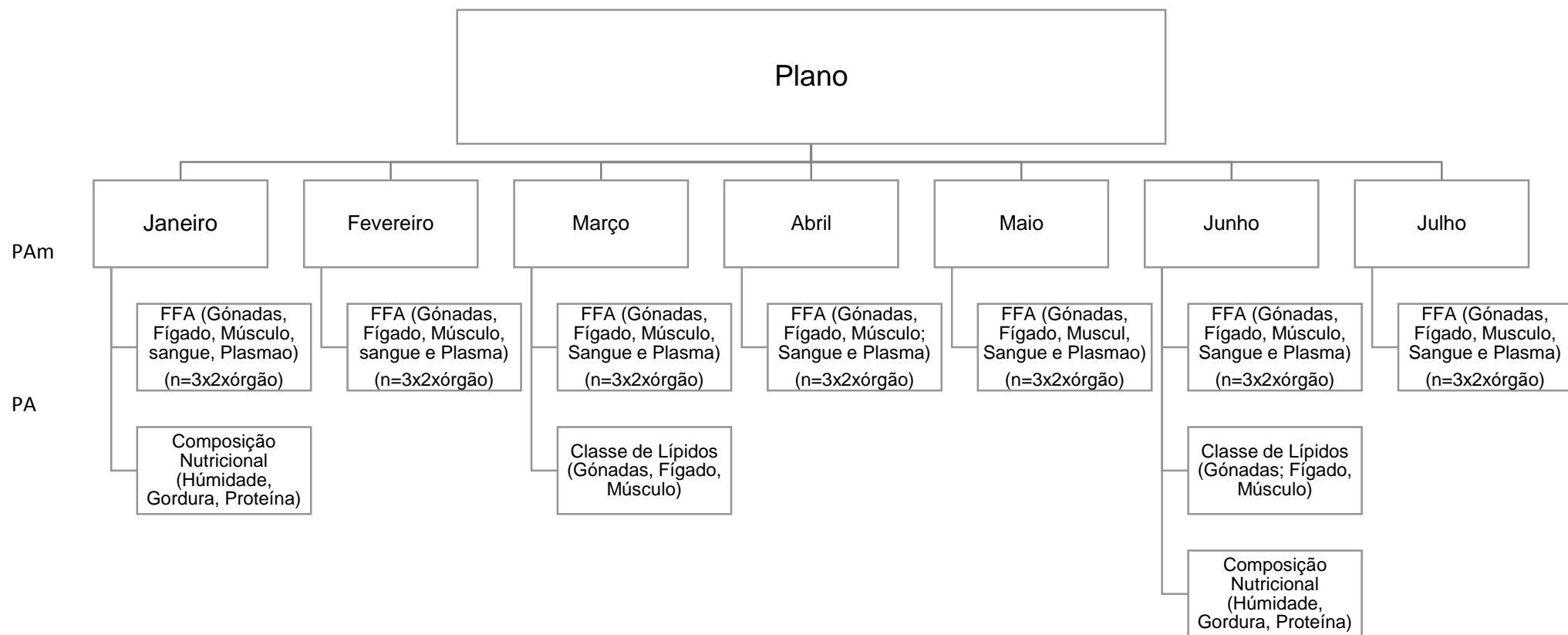


Figura 8 - Plano de Amostragem (PAm) e Plano Analítico (PA).

Foram também analisadas amostras de sangue e plasma, das respectivas corvinas estudadas durante os meses de Janeiro e Julho, com o intuito de se verificar a existência de uma correlação entre o sangue e os órgãos, de modo a diminuir ou até mesmo cessar o abate das corvinas.

3.2. Determinações Analíticas

3.2.1. Determinação do teor de lípidos totais (Método *Folch*)

Para a determinação do teor de Lípidos totais nas amostras do músculo da corvina, recorreu-se ao método descrito por *Folch et al.*, em 1956. O material e reagentes utilizados foram os que se encontram descritos no quadro 7.

Quadro 7 - Material e reagentes utilizados na determinação do Teor de Lípidos totais pelo método de *Folch*.

Material	Reagentes
Balança analítica de precisão 0,001 g;	Clorofórmio (CHCl ₃) + metanol (MeOH) (2:1);
Banho de Agitação;	HCl 0,1 N;
Centrífuga (<i>Sigma</i> , 2K 15);	MgCl 0,5 %.
Evaporador;	
Material de uso corrente de laboratório;	
Tubos com tampa com capacidade de 15 ml;	
<i>Vortex</i> (<i>Heidolph</i> , <i>ReAX</i>).	

Para a realização desta análise procedeu-se à pesagem, numa balança analítica, de cerca de 100 mg de amostra liofilizada, para tubos de 15 ml, devidamente pesados e identificados.

De seguida, adicionou-se aos tubos, 3 ml da solução de CHCl₃+ MeOH (2:1), previamente preparada, com o intuito de promover a extração da gordura. Agitou-se ligeiramente num *vortex* e colocou-se os tubos num banho de agitação, durante cerca de 10 minutos.

Após a agitação retiraram-se os tubos e adicionaram-se, com recurso a uma micropipeta, 3 mL de HCl 0,1 N e 300 µl de MgCl 0,5 %, de forma a promover a precipitação das proteínas. Seguidamente, voltou-se a agitar ligeiramente os tubos, que foram, posteriormente centrifugados numa centrífuga a 2000xg durante 5 minutos. Deste modo, ocorreu a separação de fases (fase aquosa e fase orgânica), e recolheu-se, com uma pipeta de *Pasteur*, a fase orgânica (parte inferior) para outro tubo de 15 ml previamente pesado. Note-se que este tubo é apenas para recolha da fase orgânica obtida.

De seguida adicionaram-se, mais uma vez, aos primeiros tubos, 3 ml da solução de $\text{CHCl}_3 + \text{MeOH}$ (2:1), colocou-se no banho de agitação, durante 5 minutos, e procedeu-se a uma segunda centrifugação a 2000xg durante 5 minutos. Recolheu-se, com recurso a uma pipeta de Pasteur, a fase orgânica e adicionou-se aos tubos que já continham a fase orgânica obtida na primeira extração.

Por fim, como o pretendido era determinar o teor de lípidos existente na amostra, procedeu-se à evaporação do solvente com fluxo de azoto. Após a evaporação procedeu-se à pesagem dos tubos, para que, com uma simples subtração ($m_{\text{amostra+tubo}} - m_{\text{tubo}}$), se determinasse a quantidade de gordura presente na amostra.

Há que salientar que este método foi também utilizado com vista à extração de gordura para a análise das classes de lípidos, nas amostras de gónadas, fígado e músculo e também para a determinação do teor lipídico das corvinas.

3.2.2. Determinação da classe de lípidos por cromatografia de camada fina (*thin layer chromatography* – TLC)

A determinação da classe de lípidos presentes nos órgãos gónadas, fígado e músculo, pressupôs, como primeiro passo, a recolha da fração lipídica (gordura) das respetivas amostras, através do método de *Folch*. Após obter-se a gordura, pode determinar-se a classe de lípidos através de uma cromatografia de camada fina (TLC). Este processo consiste, essencialmente, na aplicação das amostras na placa de gel de sílica. Consoante a afinidade dos seus compostos com o solvente ou com a fase estacionária, estas deslocam-se na placa. Ao comparar-se as deslocações com a deslocação dos padrões utilizados, consegue determinar-se quais as classes de lípidos que se encontram nos órgãos.

Realizou-se uma TLC analítica, uma vez que o objetivo desta análise era identificar e analisar de forma relativa as diferentes frações lipídicas. O material e reagentes utilizados encontram-se referidos no quadro 8.

Antes de efetuar-se a injeção da amostra nas placas de sílica, foi necessário proceder-se à preparação do material a utilizar, da solução de eluição e das próprias amostras. A placa de sílica foi colocada na estufa, durante uma hora a 110 °C, de modo a eliminar qualquer vestígio de humidade e arrefecida num exsiccador. No caso da solução de eluição, esta é constituída por n-hexano, éter etílico e ácido fórmico, na concentração de 50:50:2. Após preparada, a solução de eluição foi vertida na câmara de eluição de modo a saturar o ambiente, durante aproximadamente 30 minutos.

Quadro 8 - Material e Reagentes utilizados na determinação da classe de lípidos por cromatografia de camada fina.

Material	Reagentes
Lápis metálico;	Ácido fórmico;
Câmara de eluição e papel;	Ácido fosfomolibdico hidratado a 10 % em etanol;
Estufa;	Clorofórmio;
Exsicador;	Éter dietílico;
Micropipeta de exclusão e respectivas pontas;	n-Hexano;
Placas de sílica-gel 20x20, com 0,25 cm de espessura;	Padrões de ácidos gordos da sigma (<i>Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo</i>).
Pulverizador automático;	
Régua;	
Suporte de TLC.	

As soluções das amostras de gónadas, fígado e músculo foram preparadas de modo a que estivessem numa concentração de 10 mg/ml em clorofórmio.

Já com a placa de sílica devidamente seca e colocada no suporte, procedeu-se, com o auxílio de um lápis metálico e de uma régua de TLC, ao traçar de uma linha na parte superior da placa (que impede as amostras de eluírem para fora da placa) e a identificação das amostras e os padrões mistos que irão ser colocadas em cada ponto de aplicação (fig. 9).

De seguida, com o auxílio de uma micropipeta de exclusão aplicou-se as amostras pela seguinte ordem: primeiro as de Março e depois as de Junho. Para comparar, aplicou-se nos últimos pontos os padrões de MAG, DAG e padrão misto (constituído por uma mistura de TAG, FFA, CH e PC).

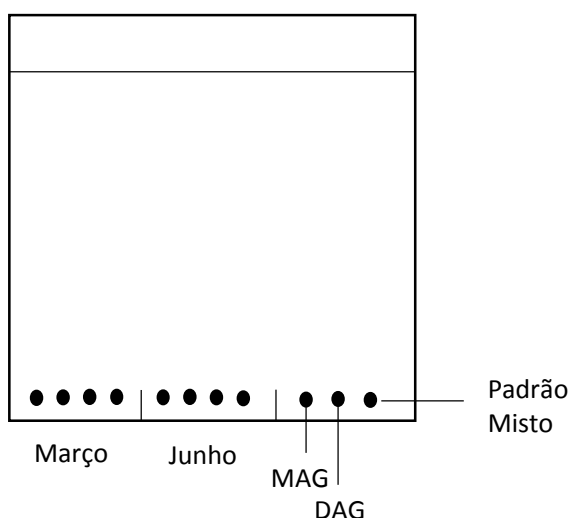


Figura 9 - Representação esquemática de uma TLC.

Após a aplicação das amostras colocou-se a placa na tina de eluição de forma a que os solventes eluíssem até ao risco superior. Seguidamente retirou-se a placa, deixou-se a evaporar, procedeu-se à revelação com ácido fosfomolibdico hidratado a 10 % em etanol e colocou-se a placa na estufa, de forma a contribuir para o escurecimento da cor e à revelação das frações lipídicas. Por fim, com as manchas já visíveis, foi possível calcular-se as proporções relativas de cada fração, através do recurso ao programa informático *Quantity One*, da PDI.

3.2.3. Determinação do Perfil em Ácidos Gordos

Para a determinação do perfil em ácidos gordos recorreu-se ao método de *Lepage & Roy* (Lepage e Roy, 1986) modificado por Cohen (Cohen *et al.*, 1988), que consiste na transesterificação, em meio ácido, dos ácidos gordos em ésteres metílicos (*FAME – Fatty Acid Methyl Esters*). As amostras foram depois injetadas num *GC Varian Star 3 800* equipado com um *auto sampler* e um detetor de ionização de chama. Os materiais e reagentes utilizados encontram-se descritos no quadro 9.

Com as amostras corretamente preparadas (moídas) procedeu-se à pesagem na balança analítica. A massa pesada variou consoante o tipo de órgão, uma vez que a quantidade disponível diferia. Sendo assim, pesou-se para tubos de 15 ml (no caso dos órgãos e tecidos) e de 18 ml (no caso do sangue e do plasma), aproximadamente 200 mg de gónadas e de fígado e 300 mg no caso do músculo. É de referir que para as amostras de sangue e de plasma, como a quantidade disponível era limitada, pesou-se toda a massa disponível, variando entre as 30 e as 60 mg no plasma, e 10 a 100 mg no sangue.

Quadro 9 - Material e Reagentes utilizados na determinação do perfil em ácidos gordos.

Material	Reagentes
Balança analítica de precisão 0,001g;	Água ultra pura <i>Milli-Q Plus Millipore</i> ;
Banho termostatzado (<i>Reacti, Therm III</i>);	Cloreto de acetilo para síntese > 98 % (V/V) (<i>Merck</i>);
Centrífuga (<i>Sigma, 2K 15</i>);	Metanol 99,8 % (V/V) (<i>Merck</i>);
Cromatografo de fase gasosa (<i>Varian, CP-3800</i>) equipado com um amostrador automático e um detetor de ionização de chama;	n-Heptano > 99,3 % (V/V) (<i>Merck</i>);
Material de uso corrente no laboratório;	Sulfato de sódio anidro 99,9 % (m/m) (<i>Panreac</i>);
Tubos com tampa com capacidade de 15 ml e de 18 ml;	
Viais;	
<i>Vortex (Heidolph, ReAX)</i> .	

Seguiu-se a elaboração da solução de Cloreto de acetilo: Metanol (1:19), procedendo-se à medição, com uma proveta graduada, de metanol para um copo de vidro. É importante realçar que o copo encontrava-se numa tina cheia de gelo, uma vez que a junção destes dois compostos promove uma reação exotérmica, na qual liberta-se calor. Pelo mesmo motivo, a adição do Cloreto de acetilo, com uma pipeta descartável de *Pasteur*, teve que ser cuidadosa – colocou-se a pipeta junto à parede do copo de vidro e adicionou-se, gota a gota, o cloreto de acetilo, rodando sempre o mesmo.

Adicionou-se a cada tubo contendo a amostra, 5 ml da solução. Seguidamente, agitou-se a amostra, num *vortex*, durante 30 segundos e adicionou-se o padrão interno (21:0), sendo que o volume adicionado deste composto variou consoante o órgão a estudar (fígado- 100 µl; gónadas – 40 µl; músculo- 71 µl; ração – 10 µl; plasma- 25 µl; sangue- 3 µl), derivado do facto de cada órgão e tecido apresentar um teor distinto de gordura. A quantidade de padrão interno adicionada foi previamente testada em cada uma das amostras.

De seguida os tubos foram colocados em banho-maria a 80 °C, durante 1 hora. Após concluído esse tempo, foram retirados e deixados a arrefecer. Caso, durante o banho tenha-se verificado evaporação total do solvente, adicionou-se ao respetivo tubo 5 ml de metanol.

Posteriormente, colocou-se 1 ml de água *Mili-Q*, 2 ml de n-Heptano e agitou-se novamente os tubos, num *vortex*, durante aproximadamente 30 segundos. Procedeu-se de seguida à separação da fase orgânica e da fase aquosa através de uma centrifugação, durante 5 minutos a 2000xg. Após esta etapa, recolheu-se a fase orgânica (parte superior que contém os ésteres metílicos) e passou-se por uma coluna de algodão e sulfato de sódio anidro, previamente preparada, de modo a garantir que nenhuma fração da fase aquosa fosse transferida para o vial.

De seguida, todas as amostras que necessitavam ser concentradas foram sujeitas a um fluxo contínuo de azoto, de modo a promover a sua evaporação, seguida da adição do volume pretendido de n-Heptano.

Posteriormente, procedeu-se à análise dos ésteres metílicos dos ácidos gordos através da injeção de 2 µL num cromatógrafo gasoso, *Varian Star CP-3800 (Walnut Creek, CA, USA)*, com detetor de ionização de chama (FID), a 250 °C. A separação é efetuada numa coluna capilar de polietileno glicol fundida DB-wax (0,25 mm d.i × 30 m × 0,25 µm), tendo como gás de arraste o hélio. A leitura no cromatograma tem a duração de cerca de 40 minutos por cada injeção, sendo que, durante esse tempo, a coluna é aquecida a 180 °C, aumentando cerca de 4 °C durante 25 minutos, até se atingir os 220 °C. No final da leitura obtém-se um cromatograma que tem que ser analisado (Anexo I). Assim sendo, os ácidos gordos presentes na amostra são identificados através da comparação entre o tempo de retenção obtido para cada um deles e o do obtido nos mesmos ácidos gordos existentes no padrão da *Sigma-Aldrich* (PUFA-3 óleo de savelha da *Supelco Analytical*). Por fim, segue-se a etapa de quantificação dos diferentes ácidos gordos em função da sua área do pico, da área do pico do padrão interno (21:0), da massa da amostra pesada e da área total dos ácidos gordos da amostra (área total - área do padrão interno).

Para o cálculo da percentagem relativa dos ácidos gordos totais excluindo a área do Padrão Interno, recorreu-se à seguinte fórmula:

$$\% \text{ relativa sem P. I.} = \frac{(\text{Área}_{A.G.} \times 100)}{(\text{Área}_{A.G.Total} - \text{Área}_{P.I.})}$$

Após a conversão da área em percentagem relativa procedeu-se ao cálculo das médias e respetivos desvio padrão, para que se procedesse à construção dos gráficos.

3.2.4. Composição Nutricional

Pretendeu-se também determinar a composição nutricional do músculo da corvina a fim de detetar possíveis diferenças que possam existir nas corvinas, na época de Inverno e na época de Verão. Esta análise permitiu também caracterizá-las pormenorizadamente. Analisou-se o músculo, uma vez que é a parte do peixe que o consumidor habitualmente ingere. Assim, determinou-se o teor de humidade, o teor proteico e o teor de gordura. Este último baseou-se no método de *Folch*, anteriormente referido.

3.2.4.1. Determinação do teor de humidade

A humidade foi determinada recorrendo à norma NP 2282:2009, a qual consiste na secagem das amostras, em estufa, a uma temperatura de cerca de 105 °C, e pesagem até obtenção de um peso constante. Os materiais utilizados na análise encontram-se descritos no quadro 10.

Quadro 10 - Material utilizado na determinação da humidade nas amostras de corvina.

Material
Balança analítica de precisão 0,001 g;
Cápsulas de vidro;
Estufa de secagem;
Exsicador;
Máquina picadora;
Pinça metálica;
Sílica;
Varetas de vidro.

O procedimento consistiu na colocação da cápsula de vidro, onde a amostra será posteriormente armazenada, numa estufa a 105 °C, durante pelo menos uma hora. Deste modo, garante-se que toda a humidade presente na cápsula é eliminada. Findo esse tempo, retirou-se a cápsula, com o auxílio de uma pinça metálica, e colocou-se no exsicador a arrefecer. De seguida, retirou-se do exsicador e pesou-se a cápsula numa balança analítica.

Após a determinação da massa da cápsula pesou-se cerca de 10 g de amostra e colocou-se a amostra a secar na estufa (105 °C), durante uma noite. No dia seguinte, procedeu-se à primeira pesagem da amostra+cápsula, após arrefecimento em um exsicador. De seguida colocou-se novamente a amostra na estufa por 45 minutos ao fim dos quais se procedeu a uma nova pesagem da amostra+cápsula, após arrefecimento num exsicador. É de notar que este procedimento é repetido - operação

de secagem, arrefecimento e pesagem - até que o resultado de duas pesagens sucessivas não difiram entre si mais do que 10 mg.

Terminada a pesagem seguiu-se a etapa de determinação da humidade das amostras com base na seguinte fórmula:

$$Humidade = \frac{(m_1 - m_3)}{(m_2 - m_1)} \times 100$$

onde,

m_1 - massa da cápsula;

m_2 - massa da amostra+cápsula antes de ir à estufa;

m_3 - massa da amostra+cápsula após estufa.

3.2.4.2. Determinação do teor proteico

A determinação do teor proteico da corvina teve por base a utilização de um equipamento LECO FP- 528, que consiste na determinação indireta, por meio de uma combustão, do teor de proteína total da amostra, a partir da quantidade de azoto presente na amostra a ser analisada. As proteínas são macromoléculas que contêm azoto na sua constituição, logo esta determinação indireta é possível através do fator de conversão que para o caso do pescado é estabelecido como sendo de 6,25.

Os materiais e reagentes utilizados na quantificação do teor de proteína encontram-se descritos no quadro 11.

Quadro 11 - Material e Reagentes utilizados na determinação do teor proteico da corvina.

Material	Reagentes
Balança analítica de precisão 0,001 g;	EDTA
Espátula;	
LECO FP – 528;	
Papel de estanho.	

Esta determinação requer, numa primeira fase, a calibração do equipamento, através da construção de uma curva de calibração. Para a construção da curva pesaram-se 5 massas diferentes de EDTA (50, 100, 150, 200 e 250 mg), que foram de seguida colocadas no aparelho para posterior leitura. É importante referir que o EDTA é o composto escolhido para a realização da calibração do equipamento, uma vez que a quantidade de N presente no mesmo é previamente conhecida.

Para as amostras pesou-se cerca de 150 g de amostra, numa balança analítica, em papel de estanho, e selou-se muito bem, de modo a que a amostra fique bem isolada. De seguida colocaram-se todas as amostras pesadas no equipamento e procedeu-se à determinação. Esta é muito mecanizada, uma vez que o equipamento é totalmente autónomo. A amostra, que já se encontra no carrossel, cai dentro de um forno aquecido a 850 °C, onde ocorre o processo de combustão das amostras na presença de oxigénio. Os produtos resultantes da combustão (CO₂, H₂O, NO_x, N₂) passam por um filtro e um refrigerador termoelétrico, para que lhes seja retirada toda a humidade, e são, seguidamente, recolhidos no *ballast*. Aí, esses gases são homogeneizados, e é removida uma pequena alíquota (3 cc). Esta é então obrigada a passar por uma coluna de cobre para que todo o oxigénio seja removido e para converter o NO_x em N₂. O N₂ é arrastado por uma corrente de gás hélio até uma célula de condutividade térmica onde se procede à sua quantificação. Os resultados obtidos são expressos em N₂, N₂/proteína e registados no programa do equipamento.

3.3. Tratamento dos resultados

3.3.1. Tratamento estatístico dos dados

Para o tratamento estatístico dos dados obtidos recorreu-se ao *software* STATISTCA. Realizou-se uma análise de variância (ANOVA *one-way*) a 1 fator, com vista a determinar se existem diferenças significativas entre as amostras, para uma confiança de 95 % (*p-value*<0,05). As médias foram comparadas pelo teste de *Scheffé*.

Com o mesmo *software*, os dados foram submetidos a uma análise em componentes principais e uma análise de agrupamento de dados (*cluster*).

3.3.2. Tratamento dos resultados relativos à composição nutricional

Os teores de proteína, gordura e humidade das corvinas produzidas em aquacultura, referentes aos meses de Janeiro e Junho, expressos em base seca foram convertidos para base húmida, a fim de proceder à análise nutricional. De seguida, determinou-se a quantidade de proteína e gordura em 100 e 160 g de corvina fresca. Há que referir que este valor, 160 g, foi escolhido uma vez que nutricionalmente é esta a quantidade de peixe que os nutricionistas admitem ser a necessária/ correta numa refeição.

Estimou-se também o valor energético expresso em kcal/ 160 g de parte edível da corvina. Esta estimativa foi calculada segundo os fatores estabelecidos pela FAO (1989): proteína - 4,27 kcal g⁻¹ de peso húmido, lípidos - 9,02 kcal g⁻¹ de peso húmido, glúcidos - 4,11 kcal g⁻¹ de peso húmido. A FAO determina também que, se a quantidade de hidratos de carbono for muito reduzida (< 0,3%) pode-se desprezar esse

componente. Como os peixes são alimentos cujo teor de glúcidos é muito diminuto, para o cálculo do aporte calórico, recorreu-se apenas ao teor proteico e lipídico:

$$\text{Valor Energético (kcal)} = 4,27 \text{ (kcal g}^{-1}\text{)} \times \text{Proteína (g)} + 9,02 \text{ (kcal g}^{-1}\text{)} \times \text{Lípidos (g)}$$

Foi também calculado a quantidade de EPA+DHA (mg/160 g de corvina) que as corvinas de Janeiro e Junho forneciam. Como no mês de Janeiro o teor de EPA+DHA encontrava-se expresso em % relativa foi necessário converter esse teor para valor absoluto (mg/100 g). Neste sentido utilizou-se o fator corretivo estabelecido por Weihrauch *et al.* (1977), para de seguida calcular-se o valor de ácido gordo em mg/ 100 g:

$$\text{Fator corretivo} = 0,933 - 0,143/\% \text{ gordura}^*$$

$$\text{Valor ácido gordo (mg/100 g)} = \% \text{ relativa do A. G.} \times \text{Fator Correctivo} \times (\% \text{ Gordura}/100) \times 1000$$

*em g/100 g de base húmida

Como o que se pretendia era estudar em 160 g de corvina, fez-se então, no final, a conversão. Este cálculo permitiu determinar o quanto é que o consumo esperado de corvina contribuí para suprir as necessidades diárias recomendadas nestes ácidos gordos. Segundo o ISSFAL (2004), o DRI de EPA+DHA, na prevenção primária da doença cardiovascular, é de 500 mg/ dia.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. Caracterização da composição lipídica da ração

A ração revelou conter um maior teor em ácidos gordos PUFA (cerca de $48,4 \pm 0,5$ mg/g), nos quais se destacam os ácidos gordos EPA e DHA. Dentro dos MUFA, o 18:1 foi o maioritário, já para os SFA, o ácido palmítico (16:0) é o que existe em maior quantidade (quadro 12).

Quadro 12 - Composição Lipídica da ração administrada às corvinas.

Ração (mg/g)		
Ácidos Gordos	Média	Desvio Padrão
14:0	8,5	1,0
16:0	24,3	2,4
18:0	2,0	2,8
Total SFA	37,3	6,4
16:1	9,0	0,9
18:1	20,5	0,7
20:1	4,4	0,1
Total MUFA	39,8	0,5
18:2 n-6 LA	9,1	0,6
20:4 n-6 AA	1,0	0,0
20:5 n-3 EPA	14,4	0,1
22:5 n-3 DPA	1,5	0,1
22:6 n-3 DHA	12,5	0,7
Total PUFA	48,4	0,5

4.2. Variação Sazonal do Perfil Lipídico da Corvina

Na presente dissertação analisou-se, numa primeira fase, o perfil em ácidos gordos das gónadas, fígado e músculo, de corvinas produzidas em aquacultura, durante os meses de Janeiro a Julho. Os resultados referentes às amostras de sangue e de plasma não serão expostos, uma vez que os mesmos não forneceram informação relevante ao presente trabalho.

4.2.1. Lípidos Totais e Classe de Lípidos

Os ácidos gordos encontram-se no organismo dos peixes preferencialmente na forma de triacilgliceróis (TAG) e fosfolípidos (PL). Só uma fração muito reduzida dos mesmos é que se encontra na forma livre (FFA), os quais, frequentemente estão associados à ocorrência de reações negativas de hidrólise. Por vezes, poderão também encontrar-

se, mas em menor quantidade, na forma de Colesterol (CL) e Monoacilgliceróis (MAG). O modo como estão associados afeta diretamente a disponibilidade dos mesmos.

No presente trabalho analisaram-se as gónadas, o fígado e o músculo da corvina de aquacultura de forma a avaliar-se o modo como os ácidos gordos, que seguidamente iremos estudar, encontram-se associados. Esta análise pretendeu simultaneamente determinar as classes predominantes em cada órgão/ tecido da corvina e averiguar a existência de variações sazonais na distribuição das mesmas.

Analisando em primeiro lugar as gónadas verifica-se que, pelo quadro 13, em termos de lípidos totais (LT), houve um certo aumento percentual. No mês de Março as gónadas continham cerca de 10,3 % e em Junho aumentou para 15,1%, em peso seco. Em termos das classes de lípidos, constata-se que, analisando o quadro 13, em ambos os meses a classe predominante são os TAG, seguida dos CL (Anexo 2).

Os resultados obtidos apresentam algumas semelhanças com os alcançados por Shirai *et al.*, em 2006, em ovas de diferentes espécies de atum, nomeadamente no que diz respeito à espécie que apresenta um maior teor lipídico – *Ikura*. Nesta espécie os TAG foram igualmente a classe de lípidos predominante. Contudo, em oposição às gónadas da corvina, as gónadas do atum apresentaram como segunda classe predominante os PL, seguido do CL. Outro aspeto a referir diz respeito à predominância dos TAG face às restantes classes de lípidos, e o facto de nas ovas do atum *Ikura* não se ter verificado esta diferença.

Quadro 13 - Classe de lípidos presentes nas Gónadas.

		TAG (%)*	FFA (%)*	CL (%)*	MAG (%)*	PL (%)*	LT (%)**
Março	Média	74,9	4,5	14,8	1,2	4,6	10,3
	Desvio Padrão	6,2	2	3,8	0,3	0,9	-
Junho	Média	77,0	4,7	13,1	1,2	4,0	15,1
	Desvio Padrão	1,8	0,6	0,7	0,5	0,5	-

* % total das classes de lípidos

** g/100 g em base seca

No caso do fígado o teor lipídico, como seria de esperar, por ser o órgão que preferencialmente metaboliza a gordura, é superior ao presente nas gónadas, contendo no mês de Março uma percentagem de 47 % e em Junho de 59,2 %. Verifica-se que entre o mês de Março e o de Junho o teor em lípidos totais aumentou (quadro 14), tal como observado por Kandemir *et al.* (2006), no seu ensaio decorrido entre Fevereiro de 1997 e Janeiro de 1998, em fígado de trutas.

Quanto à classe predominante, verifica-se, com recurso ao quadro 14 e ao anexo III, que os TAG são os maioritários, em ambos os meses, representando cerca de 80,5 % e 85,9 %, respetivamente. Depreende-se com estas percentagens que o teor de TAG aumentou ligeiramente ao longo do tempo. O fígado também contém FFA, CL e PL, em menor quantidade que as gónadas.

Os resultados assemelham-se com os obtidos por Rodriguez *et al.* (2004), em goraz preto, mantido em cativeiro durante 1 ano e também com os obtidos por Sinanoglou *et al.* (2014) nas suas corvinas produzidas em estado selvagem. Em ambos os estudos a classe predominante foi igualmente os TAG, o que seria espectável, uma vez que o órgão em causa é um órgão metabólico, que pela função que desempenha, deveria possuir um maior teor de lípidos de reserva, em comparação com os lípidos estruturais.

Quadro 14 - Classe de lípidos presentes no Fígado.

		TAG (%)*	FFA (%)*	CL (%)*	PL (%)*	LT (%)**
Março	Média	80,5	10,5	5,3	3,7	47,0
	Desvio Padrão	2,3	1,7	1,3	0,3	-
Junho	Média	85,9	4,9	4,9	4,2	59,2
	Desvio Padrão	1,3	0,7	0,6	0,9	-

* % total das classes de lípidos

** g/100 g em base seca

Relativamente ao músculo, o teor em lípidos totais aumentou ligeiramente, cerca de 8 pontos percentuais (base seca), entre Março e Junho (quadro 15). Este resultado difere do que Kandemir *et al.* (2006) obteve no seu ensaio em músculo de truta. Neste caso o teor lipídico manteve-se constante. Esta diferença poderá ser explicada, por um lado, pelas espécies serem diferentes e possuírem, por consequência, metabolismos distintos, mas também, por outro lado, por terem sido criadas em diferentes condições. As corvinas foram produzidas em aquacultura, já as trutas analisadas encontravam-se em estado selvagem no lago *Derbent Dam*.

A TLC analítica (anexo IV) evidenciou que o músculo é constituído, no mês de Março, por TAG (86,8 %), CL (6,6 %) e PL (6,6 %) (quadro 15). Já em Junho a constituição foi diferente, o teor de TAG aumentou (93,6 %), o teor de CL e PL diminuiu (2,9 % e 3,5 %, respetivamente). A composição em classes de lípidos obtida na presente dissertação vai de acordo com a que Sinanoglou *et al.* (2014) observou no seu ensaio com corvinas selvagens e produzidas em aquacultura. Nas corvinas produzidas em aquacultura os TAG foram igualmente a classe de lípidos predominante (92,3 %), no músculo, seguido dos lípidos polares, nomeadamente os fosfolípidos (6,15 %), e de CL (1,55 %).

Quadro 15 - Classe de lípidos presentes no Músculo.

		TAG (%)*	CL (%)*	PL (%)*	LT (%)**
Março	Média	86,8	6,6	6,6	10,1
	Desvio Padrão	0,8	0,6	0,3	-
Junho	Média	93,6	2,9	3,5	18,1
	Desvio Padrão	0,6	0,4	0,2	-

* % total das classes de lípidos

** g/100 g em base seca

Os resultados obtidos para o músculo não vão de encontro ao esperado, uma vez que, segundo a bibliografia recolhida, as espécies magras deveriam apresentar um teor em fosfolípidos superior e um teor em TAG mais reduzido. Grigorakis *et al.* no seu estudo com corvinas de 1,5 kg e com uma percentagem em lípidos totais de 1,06 %, corroborou esta teoria demonstrando que a classe predominante nas suas amostras foi a que engloba os lípidos polares, destacando-se a fosfatidilcolina (PC). Os resultados obtidos no presente estudo poderão ser diferentes pelo facto das corvinas analisadas serem mais evoluídas, com um peso de cerca de 2,5 kg, e com um estado de maturação mais avançado, que poderá contribuir, por sua vez, para o aumento dos lípidos de reserva, isto é, dos TAG.

4.2.2. Composição, em termos de ácidos gordos, nos diferentes órgãos

De seguida encontram-se expostos os gráficos referentes a cada ácido gordo. Cada figura descreve a variação das médias, em percentagem dos ácidos gordos totais, do ácido gordo em estudo, ao longo do tempo, nos diferentes órgãos/ tecidos analisados. Estão também representados os respetivos desvio padrão para que se tenha informação a cerca da dispersão das amostras.

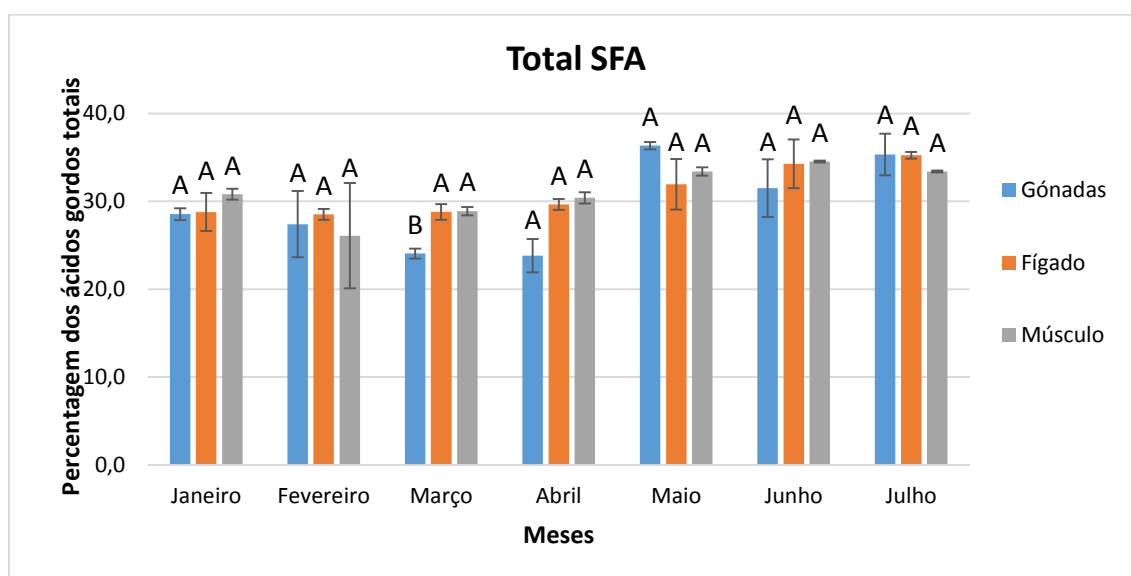


Figura 10 - Teor de ácidos gordos saturados totais nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

O primeiro gráfico a ser apresentado refere-se ao total de ácidos gordos saturados (SFA). Observando a figura 10 pode-se constatar que os órgãos e tecidos analisados apresentam teores muito semelhantes. Consoante o mês de análise existem certas flutuações de qual o órgão/ tecido mais rico e mais pobre no total de SFA. Assim, verifica-se também que existe uma certa tendência para que a quantidade de SFA aumente com o aproximar dos meses quentes, sendo máxima, tanto nas gónadas, como no fígado e no músculo, nos meses de Maio, Junho e Julho.

Analisando mês a mês, verifica-se, pela análise de variância (figura 10), que, tal como a figura 10 sugeria, em todos os meses estudados não existiram diferenças significativas, em termos de composição em SFA total, no que diz respeito aos 3 órgãos/ tecidos – gónadas, fígado e músculo -, para um $p\text{-value}<0,05$. Todos os órgãos, nesses meses, apresentam uma composição lipídica semelhante no que diz respeito ao total de SFA.

Por sua vez, a análise de variância realizada para as gónadas (Anexo V), constatou que as diferenças manifestadas na figura 10, só eram significativamente superiores nos meses de Maio e Julho. Nos restantes meses não existiram diferenças significativas ($p\text{-value}<0,05$). É de realçar que, no mês de Junho, apesar de pela figura 10 se depreender que o teor de SFA nas gónadas foi elevado, a análise estatística demonstrou que este apenas é significativo em comparação com os meses de Abril e Março. No caso do fígado, a análise de variância (Anexo VI) revelou que os meses de Junho e Julho apresentaram teores significativamente superiores aos restantes meses ($p\text{-value}<0,05$), tal como sugeria a figura 10.

No músculo a análise estatística (Anexo VII), por sua vez, demonstrou que o teor de SFA total durante todo o ensaio foi praticamente igual, só existindo diferenças significativas entre o mês de Fevereiro e Junho ($p\text{-value}<0,05$). Assim, no caso do músculo, o aumento do teor de SFA total manifestado na figura 10, só é significativamente diferente no mês de Junho.

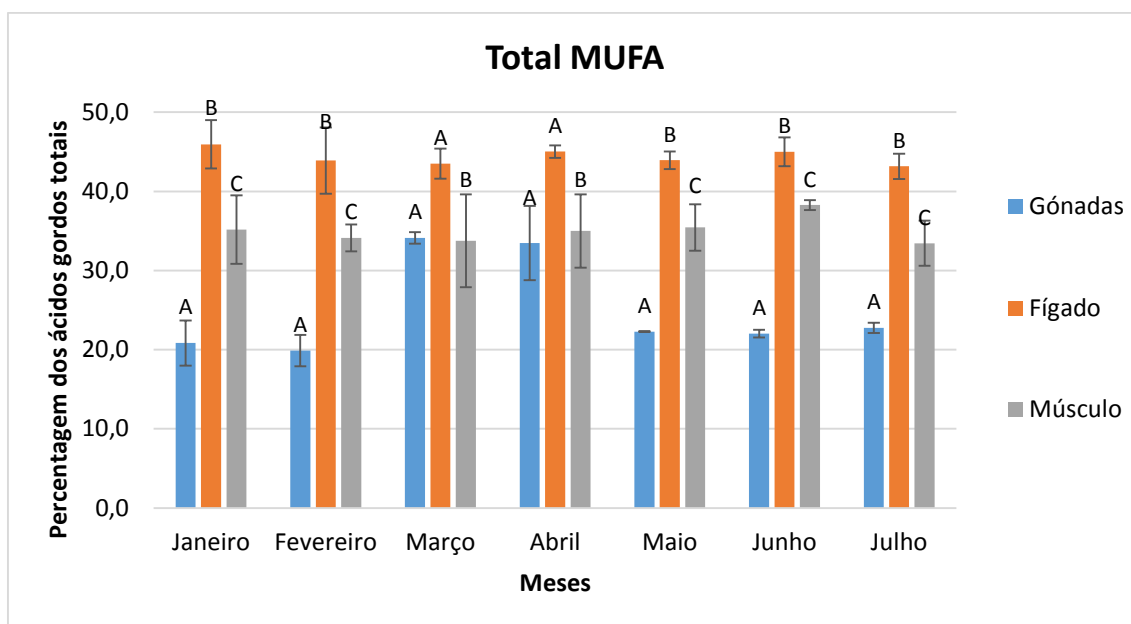


Figura 11 - Teor em ácidos gordos monoinsaturados totais nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

No que diz respeito ao total dos MUFA, a figura 11 evidencia que o fígado é o órgão da corvina, que percentualmente, é mais rico neste tipo de ácidos gordos. Ao longo do estudo o seu teor não apresentou muitas oscilações, estando sempre próximo dos 45 %, tal como comprovado pela análise de variância (Anexo VI), que demonstrou não existirem diferenças significativas ($p\text{-value} < 0,05$). Quanto às gónadas, estas foram, em praticamente todos os meses, os órgãos mais pobres em MUFA. À exceção dos meses de Março e de Abril, em que o seu teor assemelhou-se ao existente no músculo, nos restantes meses rondava os cerca de 20 %. Pela figura 11 verifica-se também que este órgão, com funções reprodutivas, foi o que mais oscilações evidenciou, sendo que, de acordo com a análise de variância (Anexo V) os meses de Março e Abril manifestaram teores significativamente superiores aos restantes ($p\text{-value} < 0,05$). Relativamente ao músculo, o seu teor foi sempre muito estável durante todo o ensaio, cerca de 35 %, não apresentando, com um grau de confiança de 95 %, diferenças significativas (Anexo VII).

A análise de variância relativa ao teor de MUFA total nos diferentes órgãos, mês a mês, demonstrou que, as diferenças observadas na figura 11, são de um modo geral significativas, para um $p\text{-value} < 0,05$. Sendo assim, nos meses de Janeiro, Fevereiro, Maio, Junho e Julho detetaram-se diferenças significativas ao nível dos três tecidos, relativamente à composição lipídica em MUFA total. Já nos meses de Março e Abril, o teor de MUFA total presente no fígado demonstrou ser significativamente superior ao existente nas gónadas e no músculo ($p\text{-value} < 0,05$).

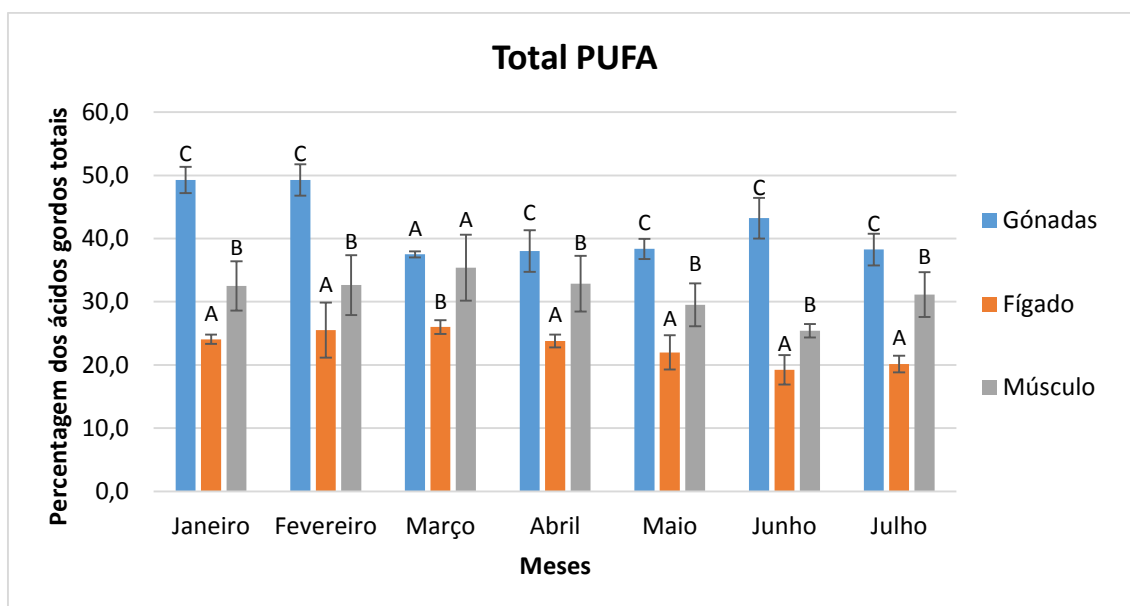


Figura 12 - Teor em ácidos gordos polinsaturados totais nas gónadas, fígado e músculo, da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

Analisando os resultados obtidos do perfil de PUFA totais presentes nas amostras constata-se que as gónadas, à exceção da analisada no mês de Abril, é o órgão que contém um maior teor, em percentagem dos ácidos gordos totais, de PUFA total. Esse teor foi máximo nos meses Janeiro e Fevereiro (aproximadamente 50 %), e nos restantes meses diminuiu para cerca de 40 %. A análise estatística (Anexo V) constata que os meses anteriormente referidos, Janeiro e Fevereiro, apresentaram, para um grau de confiança de 95 %, teores significativamente superiores aos restantes. No entanto, há que referir que o teor obtido em Fevereiro não é significativamente diferente do existente em Junho. O fígado, observando a figura 12, é o órgão mais pobre neste tipo de ácidos gordos. O seu teor variou entre os 20 e os 25 %, revelando uma certa tendência decrescente com o decorrer do ensaio. A análise de variância (Anexo VI) comprova essa tendência, sendo que Junho revelou ser o mês com um teor significativamente inferior em PUFA ($p\text{-value}<0,05$). Já o músculo apresenta um perfil constante de Janeiro a Fevereiro e em Março evidencia um ligeiro aumento. Nos restantes meses, o teor em PUFA tende a diminuir, no entanto em Julho volta a apresentar um teor semelhante aos meses de Janeiro e Fevereiro. Todas estas variações só foram significativas (Anexo VII) ao nível dos meses de Junho e Março, em que Junho apresentou um teor significativamente inferior a Março ($p\text{-value}<0,05$).

O anexo VII, relativo à análise de variância, para cada mês, dos PUFA totais, nos diferentes órgãos e tecidos, demonstra que, durante praticamente todo o ensaio, estes evidenciaram ser significativamente diferentes ($p\text{-value}<0,05$). Só no mês de Março é que se verifica semelhanças ao nível do teor de PUFA total no músculo e nas gónadas.

A análise estatística demonstrou que, com 95% de confiança, estes dois órgãos/ tecidos não são significativamente diferentes, já quando se compara com o fígado atingem o limiar de significância estatística.

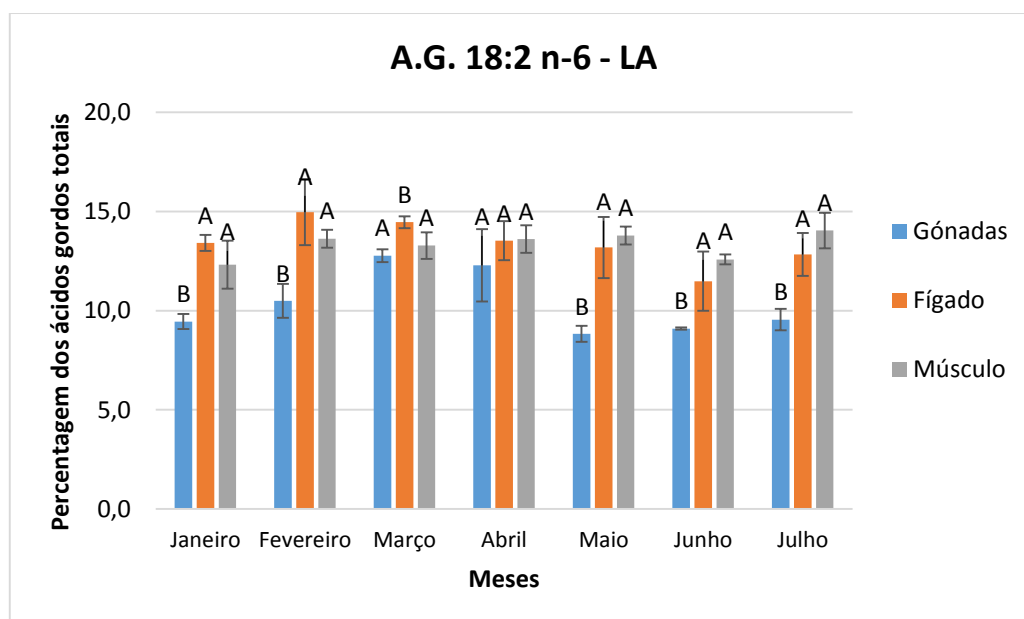


Figura 13 - Teor do ácido gordo 18:2 n-6 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

Quanto ao ácido linoleico, a figura 13 mostra que o fígado e o músculo são os órgãos e tecidos mais ricos neste ácido gordo, em percentagem dos ácidos gordos totais. No início do ensaio até Abril, o fígado foi o órgão mais rico, no entanto, a partir de Maio deixou de o ser, dando lugar ao músculo. É importante salientar que o teor de 18:2 n-6 no músculo e no fígado foi sempre muito semelhante em todo o ensaio. Quanto às gónadas a quantidade relativa de ácido linoleico aumentou nos meses de Janeiro a Março, de 9 % para 13 %, e de Março até Maio manifestou um decréscimo progressivo, contrariando o aumento que anteriormente obteve. Nos restantes meses voltou a manifestar um novo aumento. Estas variações só foram estatisticamente (Anexo V) significativas nos meses de Abril e Maio, que revelaram ser superiores aos restantes ($p\text{-value} < 0,05$). No fígado, os meses mais ricos foram Fevereiro e Março, meses em que a temperatura da água foi mais baixa. A análise de variância demonstra (Anexo VI), que embora a figura 13 sugira os meses de Fevereiro e Março como os mais ricos em LA, durante todo o ensaio o teor deste ácido gordo foi praticamente igual. Só existiram diferenças significativas ao nível do mês de Junho que, por sua vez, revelou ser o mês mais pobre em LA, quando comparado com Fevereiro e Março. No músculo o teor de LA tendeu sempre a aumentar, à exceção do mês de Junho que apresentou uma ligeira descida. Esta variação do teor de LA no músculo era expectável, uma vez que o órgão em questão reflete a ração administrada às corvinas, tal como Grikorakis *et al.* (2011) e

Mesa *et al.* (2014) constataram nos seus estudos. O ácido linoleico é um dos ácidos mais importantes da ração e, nos meses mais quentes como a temperatura da água aumenta, as corvinas tendem a consumir mais alimento. Deste modo, é normal que o teor de LA no músculo aumente. Outro aspeto que traduz a relação entre o músculo e a ração é a quantidade presente deste ácido gordo no músculo. Comparativamente com os restantes ácidos o LA existe em quantidades elevadas no músculo. Apesar deste perfil sugerido pela figura 13 a análise de variância demonstra que só os meses de Janeiro e Julho é que atingiram o limiar da significância estatística (Anexo VII).

Relativamente à existência de diferenças significativas entre os órgãos, durante todo o ensaio, verificou-se que as gónadas são o órgão que mais se distancia dos restantes órgãos/ tecidos, no que diz respeito ao teor em LA (figura 13). Nos meses de Janeiro, Fevereiro, Maio, Junho e Julho observou-se o mesmo comportamento, isto é, as gónadas apresentaram teores de LA, significativamente superiores aos existentes no fígado e no músculo ($p\text{-value}<0,05$). No mês de Março as diferenças foram sentidas ao nível do fígado, que apresentou teores significativamente superiores. Já Abril foi o único mês em que o teor, em percentagem dos ácidos gordos totais, em LA nos diferentes tecidos foi semelhante, para um grau de confiança de 95 %.

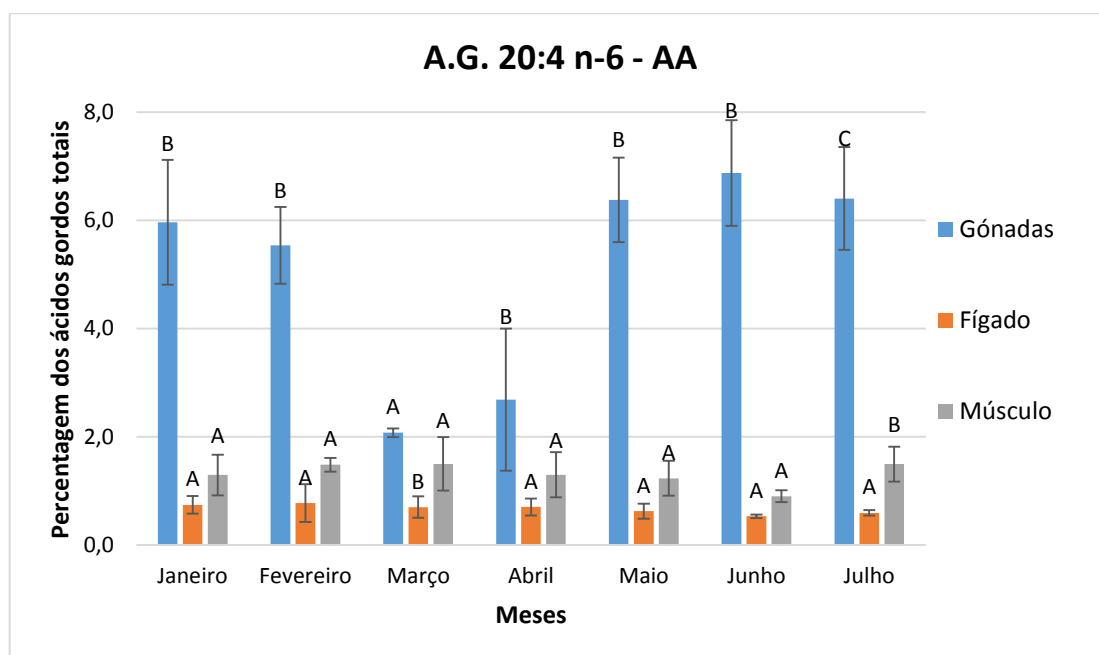


Figura 14 - Teor no ácido gordo 20:4 n-6 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, os meses de Janeiro a Julho.

Observando a figura 14 constata-se que o ácido gordo 20:4 n-6 (AA) não existe em grande quantidade no músculo e fígado da corvina, no entanto, quando analisamos órgão a órgão verifica-se que existe uma grande variação no seu teor. Claro está que esta diferença deverá ser relativizada, uma vez que, como anteriormente foi referido, a

corvina é um peixe pobre em AA. Assim sendo, pode destacar-se as gónadas como o órgão mais rico, resultado que corrobora o facto deste ácido gordo ser muito importante na componente reprodutiva. Ele é precursor de eicosanóides do tipo ómega-6 (Williams, 2000; Smith, 1989, Smith *et al.*, 2002, Tocher, 2003 *cit in* Filcun, s.d.) tão importantes no processo reprodutivo como as prostaglandinas. A figura 14 evidencia que o perfil, nas gónadas, do ácido araquidónico, não foi sempre constante em todo o ensaio experimental. Nos meses de Março e Abril o seu teor foi muito inferior aos restantes meses. A análise estatística também corrobora este perfil, demonstrando que os meses de Março e Abril foram significativamente inferiores (Anexo V). No caso do fígado, o seu teor, apesar de reduzido (inferior a 1%) foi sempre constante, tal como a análise de variância evidenciou (Anexo VI). O músculo, à semelhança do fígado, apresenta um perfil sem grandes oscilações, em que o teor é ligeiramente superior a 1 % (Anexo VII).

No que se refere à existência de diferenças significativas entre os tecidos e órgãos analisados, para cada mês estudado, ($p\text{-value} < 0,05$), verifica-se através da análise de variância, que, tal como a figura 14 sugeria, as gónadas são, de um modo geral, o tecido que mais se distânciava dos restantes, derivado, essencialmente, do seu elevado teor percentual. Deste modo, nos meses de Janeiro, Fevereiro, Abril, Maio e Junho, as gónadas apresentaram teores de AA significativamente superiores ao músculo e fígado. Já em Março a diferença reside no fígado por possuir teores significativamente inferiores ($p\text{-value} < 0,05$). Quanto ao mês de Julho, a análise de variância sugere que, com um nível de confiança de 95 %, os 3 órgãos/ tecidos atingem o limiar de significância estatística.

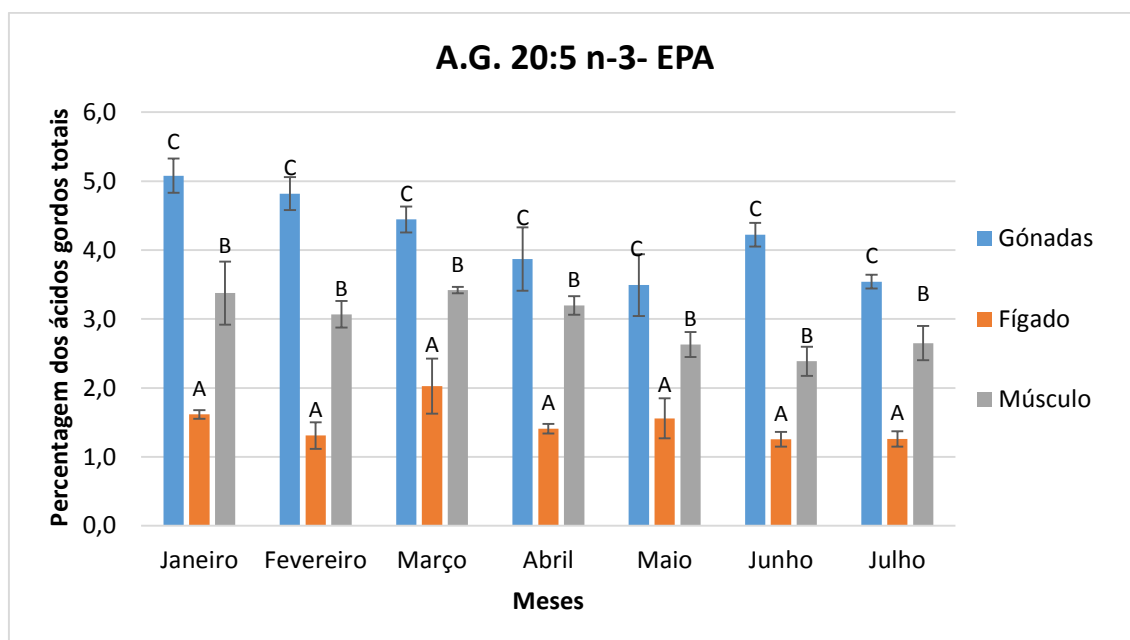


Figura 15 - Teor do ácido gordo 20:5 n-3 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

No caso do ácido gordo EPA, a figura 15 demonstra que as gónadas são o órgão que contém uma maior quantidade deste ácido gordo (3-5 %) e, em oposição, o fígado é o que apresenta um menor teor (inferior a 2 %). Norambuena *et al.* (2012) verificou igualmente que, no seu estudo com linguado, o fígado foi o órgão que apresentou um menor teor de EPA. Tal como o AA, o EPA é um ácido gordo indispensável no correto funcionamento do sistema reprodutivo de qualquer espécie, logo seria espectável este ser superior nas gónadas do que nos restantes órgãos/ tecidos. O teor de EPA nas gónadas diminuiu entre Janeiro a Maio, sendo que em Junho evidenciou um novo aumento que foi rapidamente contrariado no mês seguinte. Estatisticamente as diferenças em termos de teor de EPA, só foram sentidas entre os meses de Maio/Junho e de Janeiro/Fevereiro/Março. Os meses de Maio e Junho relevaram teores significativamente inferiores (Anexo V). No músculo o teor em 20:5 n-3 não variou muito de Janeiro até Abril e, a partir desse mês, evidenciou uma tendência decrescente. A análise estatística comprovou este perfil, sendo que as diferenças só foram mesmo sentidas entre os meses de Janeiro e Março e os meses de Maio, Junho e Julho (Anexo VII). Já o fígado, apesar de ser o órgão mais pobre, não demonstra muitas oscilações durante todo o ensaio, sendo que a análise de variância revelou diferenças significativas entre o mês de Junho e de Janeiro e Março (Anexo VI).

A figura 15 também esclarece que a corvina não é um peixe muito rico neste ácido gordo, os valores obtidos em cada órgão e tecido são relativamente baixos, comparativamente com os obtidos por Blanchet *et al.* (2005), no seu estudo em Salmão e Truta.

Com o intuito de avaliar se as diferenças observadas na figura 15 são significativas realizou-se, também para este ácido gordo, uma análise de variância. Este estudo demonstrou que, durante todo o ensaio experimental, os 3 órgãos/ tecidos da corvina são significativamente diferentes, no que diz respeito ao teor percentual de EPA. Em todos os meses, o fígado foi o órgão que, em percentagem, apresentou teores inferiores, já as gónadas foi o órgão com teores superiores ($p\text{-value}<0,05$).

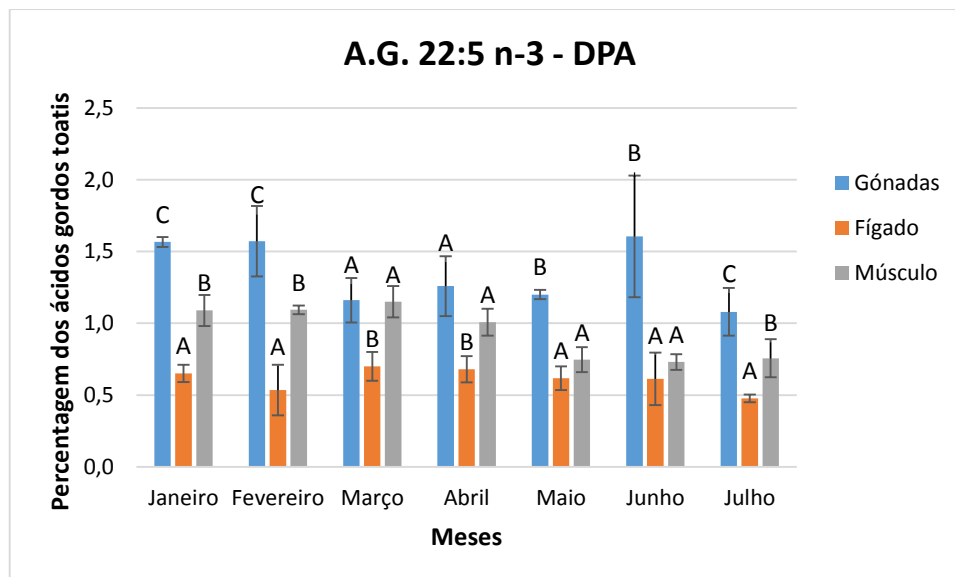


Figura 16 - Teor do ácido gordo 22:5 n-3 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

No caso do ácido gordo DPA a figura 16 demonstra que a corvina não é um peixe rico neste tipo de ácido gordo, visto que o máximo de teor registado durante o período de análise foi de cerca de 1,6 % nas gónadas. Assim, pode concluir-se que estas foram o órgão que apresentaram, em praticamente todos os meses, o maior teor deste ácido. A análise de variância (Anexo V) revelou que existiram poucas diferenças significativas ao nível do teor de DPA nas gónadas durante o ensaio. Apenas o mês de Julho é que revelou conter teores significativamente inferiores aos meses de Janeiro, Fevereiro e Junho ($p\text{-value}<0,05$). Já o fígado foi o órgão mais pobre, variando entre 0,5 a 0,7 %. A análise de variância revelou (Anexo VI) que não existiram diferenças significativas durante o período de ensaio ($p\text{-value}<0,05$). O músculo apresentou um teor relativamente constante entre os meses de Janeiro a Março (1,2 %), mas a partir de Março até Julho evidenciou um decréscimo, tal como comprovado pela análise de variância ($p\text{-value}<0,05$) (Anexo VII).

Em termos do teor no ácido gordo 22:5 n-3, também se verifica que as gónadas, o fígado e o músculo, nos meses de Janeiro, Fevereiro e Julho apresentam comportamentos semelhantes, em que os 3 órgãos/ tecidos atingem o limiar da significância estatística

(p -value<0,05). Percentualmente, o fígado é o órgão mais pobre e as gónadas são o órgão mais rico. Quanto aos meses de Março e Abril, o teor de 22:5 n-3 foi significativamente inferior no fígado comparativamente com os restantes órgãos/tecidos. No mês de Maio e Junho as diferenças significativas foram as mesmas, isto é, em ambos os meses as gónadas apresentaram teores significativamente superiores, com um nível de confiança de 95%.

O presente ácido gordo apresenta níveis elevados em mamíferos marinhos, mas no caso dos peixes esses níveis são inferiores. Deste modo, é natural que a corvina tenha revelado níveis muito baixos do mesmo (Ho, 2003 *cit in* Shahidi *et al.*, 2005).

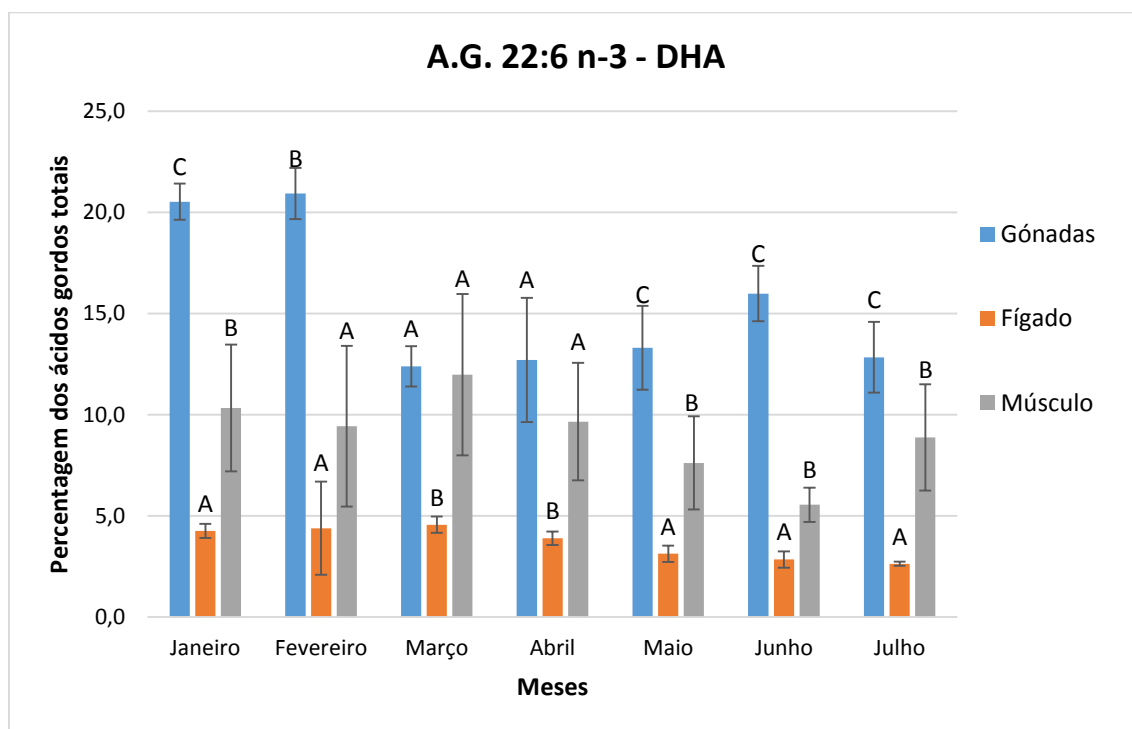


Figura 17 - Teor no ácido gordo 22:6 n-3 nas gónadas, fígado e músculo da corvina de aquacultura, nos meses de Janeiro a Julho.

Como último ácido gordo a ser estudado pormenorizadamente temos o DHA, que apresenta teores, na corvina, relativamente elevados, quando comparado com os restantes ácidos gordos polinsaturados. Este tem maior incidência nas gónadas, essencialmente nos meses de Janeiro e Fevereiro. Verifica-se que estes foram os meses em que o teor de DHA, nas gónadas foi máximo (cerca de 20 %). A análise de variância (Anexo V) corrobora essa constatação, demonstrando que os meses de Janeiro e Fevereiro foram significativamente superiores aos restantes (p -value<0,05). Excluindo estes dois meses, as gónadas evidenciam ao longo do ensaio, um perfil crescente relativamente ao teor neste ácido gordo. O fígado foi o órgão que, ao longo de todo o período de análise, apresentou uma quantidade menor de DHA, inferior a 5%. O DHA é uma componente muito importante dos fosfolípidos logo, sendo o fígado um

órgão de reserva que contém maioritariamente TAG na sua constituição, seria de esperar que este revelasse um teor inferior (Bhourri *et al.*, 2010; Norambuena *et al.*, 2012). A análise estatística (Anexo VI) demonstrou que só existiram diferenças significativas ao nível dos meses de Junho e Julho, que revelaram teores significativamente inferiores ao de Fevereiro ($p\text{-value}<0,05$). Quanto ao teor de DHA no músculo, este apresentou certas oscilações: aumentou de Janeiro a Março, diminuiu de Março a Junho, e voltou novamente a aumentar em Julho (fig. 17). Estas oscilações não são significativamente diferentes (Anexo VII). A presença de DHA no músculo em quantidades superiores, quando comparada com os restantes ácidos gordos estudados, denota que, mais uma vez, tal como Grigorakis *et al.* (2011) e Mesa *et al.* (2014) constatarem nos seus ensaios, o músculo traduz a alimentação da corvina.

A análise de variância realizada aos 3 órgãos em estudo demonstra que nos meses de Janeiro, Maio, Junho e Julho o teor de DHA nos 3 órgãos foi significativamente diferente ($p\text{-value}<0,05$), no qual as gónadas se destacam por ser o órgão que apresenta, em percentagem, teores significativamente superiores. Em Fevereiro, as diferenças não são significativas para os três órgãos, uma vez que a análise de variância comprova que a composição do fígado e do músculo é semelhante. No entanto, como anteriormente referido as gónadas continuam a distanciar-se por serem o órgão com teores relativos superiores. Nos restantes meses, Março e Abril, as diferenças foram sentidas ao nível do fígado que atingiu o limiar da significância estatística, por conter o menor teor, em percentagem, de DHA ($p\text{-value}<0,05$).

Em suma, no que diz respeito às gónadas, o presente ensaio evidenciou que elas contêm um teor mais elevado, em percentagem relativa, de PUFA, seguido dos MUFA e dos SFA. Comparando com ovas de outros peixes, nomeadamente de atum, verifica-se que, em ambos, os PUFA são os ácidos gordos maioritários (Intarasirisawat *et al.*, 2011). Este resultado era espectável, uma vez que, como já foi referido, alguns PUFA, nomeadamente o AA e o EPA, são fundamentais para a atividade reprodutiva da corvina.

Quanto ao fígado o perfil lipídico demonstrou que este órgão contém uma maior quantidade de MUFA, seguido de SFA e de PUFA. Esta composição vai de encontro com o que Norambuena *et al.* (2012) e Sinanoglou *et al.* (2014) obtiveram nos seus ensaios em Linguado Senegalês e em Corvinas, respetivamente.

Dentro dos PUFA, e apesar do fígado conter baixos teores dos mesmos (20-26 %), os ácidos gordos maioritários revelaram ser o LA, o EPA e o DHA, em que o LA se distancia

por apresentar teores na ordem dos 13 %. Em semelhança verificou-se que, para corvinas produzidas em aquacultura, os PUFA principais são igualmente o LA, o EPA e o DHA. (Sinanoglou *et al.*, 2004). Este resultado poderá derivar do facto do fígado ser um órgão importante na metabolização inicial dos lípidos, e como tal, este resultado traduzir a composição da ração, em que estes ácidos são os PUFA mais importantes.

Em termos do músculo, a composição percentual de lípidos totais evidencia que, durante todo o ensaio, as amostras de músculo apresentaram teores muito semelhantes de SFA (26-34 %), MUFA (33-38 %) e PUFA (25-32 %). Estes resultados vão de encontro com os obtidos por Grigorakis *et al.* (2010) para a mesma espécie, em que os teores de SFA foi cerca de 26 %, os de MUFA 35 % e os de PUFA 39 %.

Comparando com outras espécies comercializadas em Portugal, nomeadamente o robalo, constata-se que, à semelhança com a corvina, o robalo contém como principais PUFA o DHA e o EPA (Erdem *et al.*, 2009) É de referir que o estudo foi realizado em robalos com cerca de 300 g.

Vários estudos foram realizados com o intuito de estudar a influência da época do ano no teor lipídico do músculo de diversas espécies marinhas. Para melhor interpretar os resultados obtidos no músculo da corvina comparou-se os mesmos com os resultados obtidos no músculo da espécie *Alburnus calcoides*, originária do lago Tödürge, Turquia (Görgün *et al.*, 2012). O estudo demonstrou que a estação do ano, com as oscilações de temperatura da água do lago a que lhes são implícitas, influenciou o teor lipídico. A concentração de SFA total foi significativamente diferente nas várias estações, atingindo o máximo no Verão. As estações do ano em que a temperatura do lago é superior (Verão e Outono) possuíram uma concentração de SFA superior. O teor de MUFA também apresentou diferenças significativas ($p\text{-value}<0,05$) nos diferentes meses, sendo máximo nos meses mais frios, ou seja, nos meses que englobam o Inverno e a Primavera. Por último, o teor de PUFA foi máximo na primavera e, tal como o MUFA, apresentou teores superiores para temperaturas de água mais baixas.

Em suma, para a espécie *Alburnus calcoides* temperaturas de água mais elevadas beneficiam o teor de SFA, no entanto diminuem o teor de MUFA e PUFA.

Confrontando os resultados obtidos nos dois estudos constata-se que a época do ano tem uma menor influência na composição lipídica do músculo da corvina. Tal facto pode resultar das espécies serem produzidas de diferentes modos. A corvina foi produzida em aquacultura, logo é natural que a temperatura da água não oscile tanto. Julho, no presente estudo, foi o mês em que a temperatura da água foi superior contudo, tanto

para os SFA, os MUFA e os PUFA, a análise estatística demonstrou que não houve qualquer variação significativa do teor lipídico nos diferentes meses.

4.2.3. Análise Multivariada dos resultados

Com o intuito de clarificar e confirmar as respostas às questões colocadas no objetivo da presente dissertação, os resultados globais foram então submetidos a análise em componentes principais e análise de *cluster*.

A segunda pergunta referente ao órgão mais rico em ácidos gordos ómega-3 e 6 já foi respondida anteriormente na exposição dos gráficos referentes ao perfil lipídico dos órgãos. Concluiu-se que as gónadas são o órgão das corvinas com maior percentagem nestes ácidos gordos. Este resultado era espectável, uma vez que este órgão, sendo responsável pela parte reprodutiva do animal, tem que armazenar gordura, principalmente gordura benéfica (AA, EPA, DHA), para desempenhar corretamente a sua função.

A análise em componentes principais permite verificar que o plano definido pelas duas primeiras componentes explica 90,21 % da variabilidade total. Deste modo, o quadro 16 informa sobre a forma como as variáveis em estudo, ácidos gordos, contribuem para a explicação das componentes principais 1 e 2, isto é, quais as variáveis que contribuem para cada uma das componentes principais 1 e 2. Assim, o quadro 16 demonstra que a componente principal 2 é explicada pelos ácidos gordos 16:0 e o SFA total, todos os restantes explicam a componente principal 1.

Quadro 16 - Análise dos fatores principais.

	Fator - 1	Fator - 2
14:0	-0,90	-0,09
16:0	-0,56	-0,77
18:0	0,75	-0,43
16:1	-0,93	0,01
18:1	-0,97	0,13
20:1	-0,82	-0,37
18:2 (n-6)	-0,80	0,42
20:4 (n-6)	0,94	-0,25
20:5 (n-3)	0,92	0,25
22:5 (n-3)	0,94	0,24
22:6 (n-3)	0,97	0,16
SFA	0,14	-0,98
MUFA	-0,98	0,14
PUFA	0,96	0,22

A projeção no plano definido pelas duas primeiras componentes principais dos diferentes órgãos nos 7 meses analisados está representada na figura 18. A análise de *cluster* (fig. 20) permite verificar que as amostras em questão formam grupos distintos a uma distância euclidiana muito baixa, cerca de 4,5, pelo que se pode afirmar que, globalmente, os órgãos estudados não são muito diferentes. A variável com maior peso na separação das amostras é o tipo de órgão. Todos os fígados tendem a aproximar-se, assim como todas as gónadas e músculos. À distância euclidiana de 2,5 a maior parte das gónadas, à exceção das analisadas em Abril e em Maio, formam um grupo separado dos restantes órgãos (fig. 20). Já o fígado e o músculo formam grupos separados à distância euclidiana de 2.

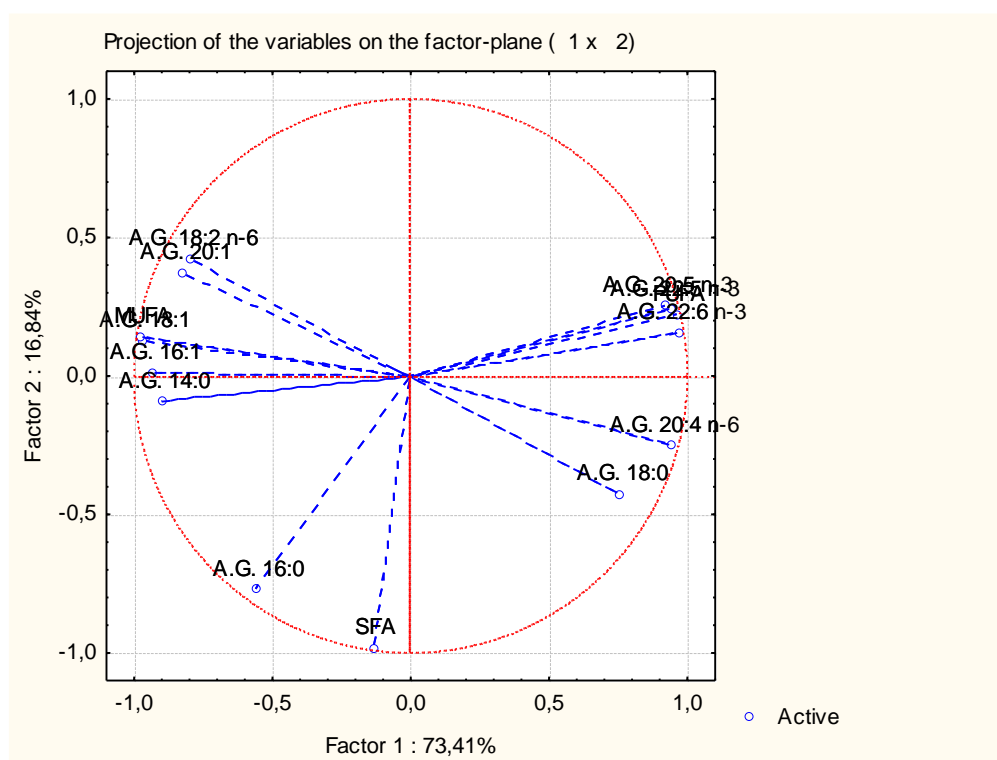


Figura 18 – Projeção das variáveis no plano definido pelas componentes principais 1 e 2.

54

Na figura 19 está representada a projeção das amostras no plano definido pelas duas primeiras componentes principais e estão mencionados os principais grupos definidos pela análise de *cluster*.

A análise conjunta das figuras 18 e 19 permite confirmar os resultados anteriormente referidos em que as gónadas estão associadas a maiores teores de EPA, DHA e de AA. Por sua vez, o fígado apresenta teores superiores de MUFA, SFA e de LA. No que se refere ao músculo, este apresenta uma composição intermédia, ou seja, não contém nenhum ácido gordo que apresente um teor superior aos dos restantes órgãos.

4.3. Composição Nutricional do Músculo da Corvina

O quadro 17 contém informação acerca da composição nutricional (proteína, gordura e humidade) do músculo das corvinas de aquacultura abatidas nos meses Janeiro e Junho.

Assim, pelo quadro 17 depreende-se que a composição nutricional deste peixe não varia muito ao longo do tempo, tal como Martelli *et al.* (2013) constaram no seu estudo, que decorreu durante os meses de Janeiro a Maio, em corvinas produzidas em aquacultura. Neste, o teor proteico e a humidade não variaram significativamente ($p\text{-value}<0,05$), contudo o mesmo não se pode aferir do teor lipídico, que manifestou um aumento significativo.

Quadro 17 - Composição Nutricional do músculo de corvina, de 2,5 kg, produzida em aquacultura.

Composição Nutricional				
	Janeiro de 2014		Junho de 2014	
	100 g de corvina	160 g de corvina	100 g de corvina	160 g de corvina
Proteína (g)	21,0±0,6	33,6±0,96	20,7±0,39	33,1±0,6
Gordura (g)	2,9±0,76	4,6±1,21	4,7±0,41	7,5±0,65
Humidade (g)	76,3±0,20	122,1±0,32	74,1±0,91	118,6±1,46
Kcal	115,3	184,5	130,6	209,0
EPA+DHA (mg)	351,4	562,2	409,9	655,8
% de contribuição para o DRI	70,3	112,5	82,0	131,2

Em concordância com os resultados obtidos por Martelli *et al.* (2013), as corvinas analisadas na presente dissertação demonstraram que o teor lipídico foi também a componente nutricional que manifestou uma maior variação.

Na perspetiva do consumidor, que pretende adotar uma alimentação equilibrada e saudável, ele ao ingerir corvina em Junho irá adquirir um maior aporte calórico do que se ingerisse em Janeiro. Numa refeição em que se admite ingerir cerca de 160 g de

corvina, o consumidor irá adquirir em Janeiro cerca de 184,5 kcal e em Junho 209,0 kcal. Costa *et al.* (2013) no seu estudo em corvinas com cerca de 600 g verificaram que o valor calórico das mesmas era de cerca de 163,2 kcal em 160 g de corvina. Em ambos os trabalhos experimentais constata-se alguma diferença, que poderá derivar do facto das corvinas possuírem tamanhos/ idades diferentes, sendo um fator determinante no teor lipídico. É imperativo referir que o valor calórico não traduz o benefício que este alimento poderá fornecer à saúde humana. Este resultará de diversas fontes, mais concretamente, no que diz respeito à presente dissertação, o conteúdo lipídico do alimento.

Sendo o teor lipídico, nomeadamente o teor em EPA+DHA, um dos aspetos fundamentais no presente estudo, analisou-se de que forma é que o consumo de corvina contribui para a satisfação das necessidades nutricionais diárias, ao nível destes dois ácidos gordos polinsaturados. Verificou-se que o aumento da temperatura da água, isto é, a aproximação dos meses quentes, contribuiu para o aumento do teor de EPA+DHA na corvina, de 562,2 mg/160 g em Janeiro, para 655,8 mg/160 g de corvina em Junho.

Considerando que a dose diária recomendável (DRI), na prevenção primária da doença cardiovascular, de EPA+DHA é de 500 mg/dia, constata-se que o consumo de 160 g de corvina contribui benéficamente para o alcance desse objetivo independentemente dos meses de abate da corvina. Tanto em Janeiro como em Junho a ingestão de corvina fornece uma quantidade superior à recomendada pela ISSFAL (2004) (113 % em Janeiro e 131% em Junho). Sinanoglou *et al.* (2014) no seu estudo com corvinas produzidas em aquacultura obtiveram uma percentagem dos ácidos gordos totais de EPA e de DHA de $4,38 \pm 0,06$ % e $5,48 \pm 0,1$ %, respetivamente. Aplicando o fator corretivo estabelecido por Weihrauch *et al.* (1977), para peixes magros, converteu-se os referidos teores em valor absoluto (mg/160 g), para mais tarde se calcular o DRI. Deste modo, o DRI obtido foi na ordem dos 47 %. Pode-se constatar que esse valor foi muito inferior ao das corvinas estudadas na presente dissertação, esta discrepância poderá resultar do facto de as mesmas possuírem massas muito inferiores, e consequentemente menores teores lipídicos. As corvinas estudadas por Sinanoglou *et al.* (2014) pesavam cerca de 1344 ± 80 g e possuíam um teor de lípidos totais no músculo de $1,75 \pm 0,04$ %, teor inferior ao do presente ensaio (Janeiro – $2,84 \pm 3,20$ % e Junho – $4,68 \pm 1,58$ %).

Os dados obtidos demonstram que seria muito interessante a nível nutricional para o consumidor integrar na sua alimentação este tipo de peixe, visto que é um alimento hipocalórico (baixo em calorias), e apenas uma refeição diária contribui para a satisfação das necessidades diárias de EPA+DHA. Por outro lado, para além da sua benéfica

composição lipídica, este alimento é também rico em proteína, uma vez que, numa só refeição poderá fornecer cerca de 33 g de proteína/160 g de corvina.

O teor de proteína, gordura e humidade das corvinas analisadas no presente estudo apresentaram algumas diferenças com as registadas por Chatzifotis *et al.* (2010). No seu estudo Chatzifotis *et al.* (2010) pretenderam investigar o efeito de 3 diferentes rações no crescimento e metabolismo de corvinas, com uma massa inicial de cerca de 230 g. No final do ensaio as corvinas apresentaram em média uma massa de 370 g, diferindo de acordo com a dieta consumida. Este resultado permitiu concluir que o teor lipídico da corvina está relacionado com a massa da mesma. No ensaio de Chatzifotis *et al.* (2010) o teor lipídico foi bastante inferior, cerca de 1,024 g/160 g. Como tal, o aporte calórico destas corvinas é inferior, na ordem dos 158 kcal em 160 g de corvina.

Comparando os resultados obtidos na corvina com os referidos na tabela de composição dos alimentos pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge para o Robalo cru e para o Peixe Espada-Preto cru, verifica-se que o primeiro contém um teor lipídico superior (12,64 g/160 g de robalo), mas ao nível do teor proteico demonstra ser mais pobre (29,6 g/160 g de robalo). Como tal, o seu valor energético é superior ao da espécie em estudo, na ordem dos 232 kcal. Já a segunda espécie de peixe contém um aporte calórico inferior ao da corvina (140 kcal), resultante essencialmente do seu baixo teor proteico (25,12 g/160 g de peixe espada-preto). Relativamente ao teor lipídico, este assemelha-se com o da corvina, na ordem dos 4,48 g/160 g de peixe-espada preto. Quanto à corvina, a tabela da composição dos alimentos fornece também informação acerca da mesma, contudo, é importante ter em atenção que os dados dizem respeito a corvina selvagem. Logo, é natural que existam diferenças com a da presente tese. Assim, as corvinas selvagens revelaram um teor lipídico inferior (2,24 g/160 g de corvina), mas um teor proteico muito semelhante (32,64 g/160 g de corvina), o que faz com que o seu valor energético seja inferior (159,58 kcal) ao das corvinas de aquacultura.

Atualmente verifica-se que uma grande parte da população considera que os peixes de aquacultura, quando comparados com os peixes selvagens, fornecem quantidades menores de ácidos gordos ómega-3. Logo, por vezes, apesar do preço ser mais elevado, preferem optar pelos peixes selvagens. Contudo, segundo os resultados obtidos na presente tese constata-se que os peixes de aquacultura fornecem igualmente teores importantes de EPA+DHA. Logo, o consumidor poderá ingerir este tipo de peixe, com benefícios claros para a sua saúde. O cultivo de espécies em aquacultura não minimiza o nível de EPA+DHA para o consumidor.

5. CONCLUSÕES

Na presente dissertação pode-se concluir que:

- O tipo de órgão é a componente que mais influencia o teor lipídico das corvinas, em detrimento do mês de abate;
- De um modo geral, o perfil lipídico, nos diferentes órgãos (gónadas, fígado e músculo), não apresentou diferenças significativas ao longo da época de abate. Assim, depreende-se a não existência de variações sazonais no perfil lipídico da corvina;
- O fígado é um órgão com elevado teor lipídico. Como órgão de metabolização da gordura apresenta níveis elevados, tal como a ração, de LA e EPA;
- As gónadas são os órgãos com maior teor em ácidos gordos ómega-3 e ómega-6, destacando-se o AA, o EPA e o DHA;
- O músculo traduz a ração administrada à corvina, apresentando elevados teores de LA e DHA;
- Todos os órgãos são constituídos essencialmente por TAG, independentemente do mês de análise;
- A corvina é um peixe magro e uma boa fonte proteica;
- A corvina fornece importantes teores de EPA+DHA, sendo estes superiores ao recomendado pelo ISSFAL (500 mg/dia), na prevenção primária da doença cardiovascular.

Em suma, pode concluir-se que todos os objetivos propostos no presente estudo em corvinas, de 2,5 kg, produzidas em aquacultura foram atingidos. A corvina é então um peixe cujo seu consumo traz benefícios comprovados ao consumidor, devendo ser, deste modo, valorizada.

6. BIBLIOGRAFIA

- Alves, F. 2013. *Bioacessibilidade de Ácidos Gordos Ómega-3 Dourada versus Suplementos Alimentares*. Lisboa. Universidade Técnica de Lisboa - Instituto Superior de Agronomia. Tese de Mestrado em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos. 46 p.
- Amoedo, A. 2011. *Determinação do requisito proteico em juvenis de corvina (Argyrosomus regius, Asso, 1801)*. Porto. Universidade do Porto – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Dissertação de Mestrado em Ciências do Meio Aquático e Recursos Marinhos – Especialização em Aquacultura e Pescas. 61 p.
- Blanchet, C., Lucas, M., Julien, P., Morin, R., Gingras, S. Dewailly, É. 2005. *Fatty acid composition of wild and farmed Atlantic salmon (Salmo salar) and rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. *Lipids*. Vol 40. 529-531 p.
- Brenna, J., Salem, R., Sinclair, A., Cunnane, S. 2009. *α -Linolenic Acid Supplementation and Conversion to n-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Humans*. ISSFAL Official Statement Number 5. 25 p.
- Candela, C., López, M., Kohen, V. 2011. *Importance of balance ómega 6/ómega 3 ratio for the maintenance of health*. Nutritional recommendations. *Nutrición Hospitaria*. Vol 26. Nº 2. 323-329 p.
- Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., Papaioannou, N., Pavlidis, M., Nengas, I., Mylonas, C. 2010. *Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and sérum metabolites of meagre (Argyrosomus regius) juveniles*. *Aquaculture*. Vol 307. 65-70 p.
- Chaveiro, N. 2012. *Bioacessibilidade de Ácidos GGordos em Salmão e Corvina de aquacultura*. Lisboa. Universidade Técnica de Lisboa- Instituto Superior de Agronomia. Tese de mestrado em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos. 56 p.
- Cohen, Z., Von Shak, A., Richmond, A.. 1988. *Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae Porphyridium cruentum: correlation to growth rate*. *J. Phycol.* 24. 328–332 p.
- Costa, S., Afonso, C., Bandarra, N., Gueifão, S., Castanheira, I., Carvalho, M., Cardoso, C., Nunes, M. 2013. *The emerging farmed fish species meagre (Argyrosomus regius): How culinary treatment affects nutrients and contaminants concentration and associated benefit-risk balance*. *Food and Chemical Toxicology*. Vol 60. 277-285 p.

- Erdem, M., Baki, B., Samsun, S. 2009. *Fatty Acid and Amino Acid Compositions of Cultured and Wild Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) from Different Regions in Turkey*. Journal of Animal and Veterinary Advances. Vol 8. 1959-1963 p.
- FAO Yearbook. 2014. *Fishery and Aquaculture Statistics*. Sales and Marketing Group. Rome. 76 p.
- FAO. 2010. *Fats and Fatty Acids in Human Nutrition*. Rome. 166 p.
- FAO. 2012. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Sales and Marketing Group. Rome. 209 p.
- FAO. 2014. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2014*. Rome.
- Fernandes, J. 2013. *Optimizing the dietary protein:lipid ratio on meagre (*Argyrosomus regius*): effects on growth and lipid deposition*. Lisboa. Universidade de Lisboa-Faculdade de Ciências. Tese de mestrado em Ecologia Marinha. 46 p.
- Filcun. s.d. *Senegalese Sole (*Solea Senegalensis*) Broodstock nutrition: Arachidonic Acid (20:4 n-6, ARA) and reproductive physiology*. Catalonia. Spain. Autonomous University of Barcelona. Tese de Doutoramento. 189 p.
- Görgün, S., Akpınar, M. A. 2012. *Effect of season on the fatty acid composition of the live rand muscle of *Alburnus calcoides* (Güldenstädt, 1772) from Tödürge Lake (Sivas, Turkey)*. Tübitak. Vol 36. Nº 5. 691-698 p.
- Grigorakis, K., Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Mittakos, I., Nathanailides, C. 2010. *Lipid Quality and filleting yield of reared meagre (*Argyrosomus regius*)*. International Food of Science and Technology. Vol 46. 711-716 p.
- Ho, 2003 cit in Shahidi, F., Zhong, Y. 2005. *Marine Mammal Oil. Bailey's Industrial. Oil and Fat Products*. Canada. John Wiley & Sons, Inc. 6ª Edição. Vol 6. 259-278 p.
- Hsieh, S, Chenb, Y., Kuoa, C. 2002. *Physiological responses, desaturase activity, and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation*. Aquaculture. Vol 220. 903-918 p.
- Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. 2007. *Tabela da Composição de Alimentos*. 1ª Edição. Lisboa, Editorial do Ministério da Educação. 355 p.
- Intarasirisawat, R., Benjaku, S., Visessanguan, W. 2011. *Chemical compositions of the roes from skipjack, tongol and bonito*. Food Chemistry. Vol 124. 1328-1334 p.

- ISSFAL. 2004. *Recommendations for intake of Polyunsaturated fatty acids in healthy adults*. Brighton, UK. 22 p.
- Jayasinghe, C., Gotoh, N., Wada, S. 2003. *Variation in lipid classes and fatty acid composition of salmon shark (Lamna ditropis) liver with season and gender*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Vol 134. Nº 2. 287–295 p.
- Kandemir, S., Polat, N. 2007. *Seasonal Variation of Total Lipid and Total Fatty Acid in Muscle and Liver of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss W., 1792) Reared in Derbent Dam Lake*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol 7. 27-31 p.
- Kminkova, M., Winterová, R., Kucera, J. 2001. *Fatty acids in lipids of Carp (Cyprinus carpio) Tissues*. Czech J. Food Sci. Vol 19. Nº5. 177-181 p.
- Lepage, G., Roy, C.C., 1986. *Direct transesterification of all classes of lipids in a onestep reaction*. J. Lipid Res. Vol 27. 114–119 p.
- Martelli, R., Zotte, A., Bonelli, A., Lupi, P. Franci O., Parisi, G. 2013. *Macronutrient and fatty acid profiles of meagre (Argyrosomus regius) fillets as influenced by harvesting time and boiling*. Italian Journal of Animal Science. Vol 12. Nº4. 538-545 p.
- Mesa, S., Suárez, M. Cervera, M., Guerrero, J., González, G., Cárdenas, S. Gallego, M. 2014. *Time course of muscle fatty acid composition of cultured meagre (Argyrosomus regius) during the first sixteen months of a cage culture*. Crasas y aceites. Vol 65. Nº1.
- Monfort, M. 2010. *Present market situation and prospects of meagre (Argyrosomus regius) as na emerging species in Mediterranean aquaculture*. Food and Agriculture of the United Nations. Roma. 28 p.
- Norambuena, F, Estevez, A., Bell, G., Carazo, I., Duncan, N. 2012. *Proximate and fatty acid compositions in muscle, liver and gonads of wild versus cultured broodstock of Senegalese sole (Solea senegalensis)*. Aquaculture. Vol 356-357. 176-185 p.
- Nunes, M.K., Bandarra, N.M., Batista, I. 2003. *Fish products: contribution for a healthy food*. Electronic Journal of Environmental Agriculture Food Chemistry. Vol 2. Nº 4. 453-457 p.
- Nunes, M.K., Bandarra, N.M., Batista, I. 2011. *Health benefits associated with seafood consumption*. In Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K., Wanasundara, U. (EDS). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications, WILEY Blackwell, UK, 369-379 p.

- Nunes, M.I., Batista, I., Bandarra, N.M., Morais, M.G., Rodrigues, P.O. 2008. *Produtos da Pesca: Valor Nutricional e Importância para a Saúde e Bem-Estar dos consumidores*. Publicações Avulsas do IPIMAR, ISSN 0872-914X, Nº18, Lisboa.
- Poli, B., Parisi, G., Zampacavallo, G., Iurzan, F., Mecatti, M.; Lupi, P., Bonelli, A. 2003. *Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (Argyrosomus regius): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish*. Aquaculture International. Vol 11. 301–311 p.
- Ribeiro, B.C. 2011. *Desenvolvimento de Produtos Reestruturados de Corvina (Argyrosomus regius) de Aquacultura*. Lisboa. Universidade Técnica de Lisboa- Instituto Superior de Agronomia. Tese de mestrado em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar. 95 p.
- Ribeiro, P., Bressan, M., Logato, P., Gonçalves, A. 2007. *Nutrição Lipídica para peixes*. Nutritime. Vol 4. 436-455 p.
- Rodrigues, P. O., Martins, S. V., Lopes, P. A., Ramos, C. Miguéis, S. Alfaia, C. M. Pinto, R. M. A. Rolo, E. A. Bispo, P. Batista, I. Bandarra, N. M, Prates, J. A. M. 2014. *Influence of feeding graded levels of canned sardines on the inflammatory markers and tissue fatty acid composition of Wistar rats*. British Journal of Nutrition. Vol 112. 309-319 p.
- Rodriguez, C., Acosta, C., Badía, P., Cejas, J., Santamaría, F., Lorenzo, A. 2004. *Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (Spondyliosoma cantharus) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. 139. 619 – 629 p.
- Rotta, M. 2003. *Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura*. Embrapa. Corimbá. 1ª Edição. 48 p.
- Sargent, J., Tocher, D., Bell, J. 2002. *The lipids*. Fish Nutrition. 3ª Edição EUA. Academic Press. 182-246 p.
- Sinanoglou, V., Proestos, C., Lantzouraki, D., Calokerinos, A., Meimaroglou, S. 2014. *Lipid evaluation of farmed and wild meagre (Argyrosomus regius)*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. Vol 116. 134-143 p.
- Smith, 1989, Smith *et al.*, 2002, Tocher, 2003 *cit in* Filcun. s.d. *Senegalese Sole (Solea Senegalensis) Broodstock nutrition: Arachidonic Acid (20:4 n-6, ARA) and reproductive physiology*. Catalonia. Spain. Autonomous University of Barcelona. Tese de Doutoramento. 189 p.

Stickney, R. 1994. *Principles of Aquaculture*. 1994. John Wiley & Sons, inc. EUA. New York. 502 p.

Trusty, M. 2002. *The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade*. Aquaculture. Vol 205. 203-219 p.

Tocher, D. 2003. *Metabolism and functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish*. Fisheries Science. Vol 11. 107-184 p.

Trueman, R.J; Tikku, P.E.; Caddick, M.X.; Cossins, A.R. 2000. *Thermal thresholds of lipid restructuring and delta 9-desaturase expression in the liver of carp (Cyprinus carpio)*. J. Exp. Biol. Vol 203. 641–650 p.

Weihrauch, J. L., Posati, L. P., Anderson, B. A., Exler, J. 1977. *Lipid conversion factors for calculating fatty acids contents in foods*. JAOCS. Vol 54. 36-40 p.

Williams, C. 2000. *Dietary fatty acids and human health*. Ann. Zootech. Vol 49. 165-180 p.

7. CIBERGRAFIA

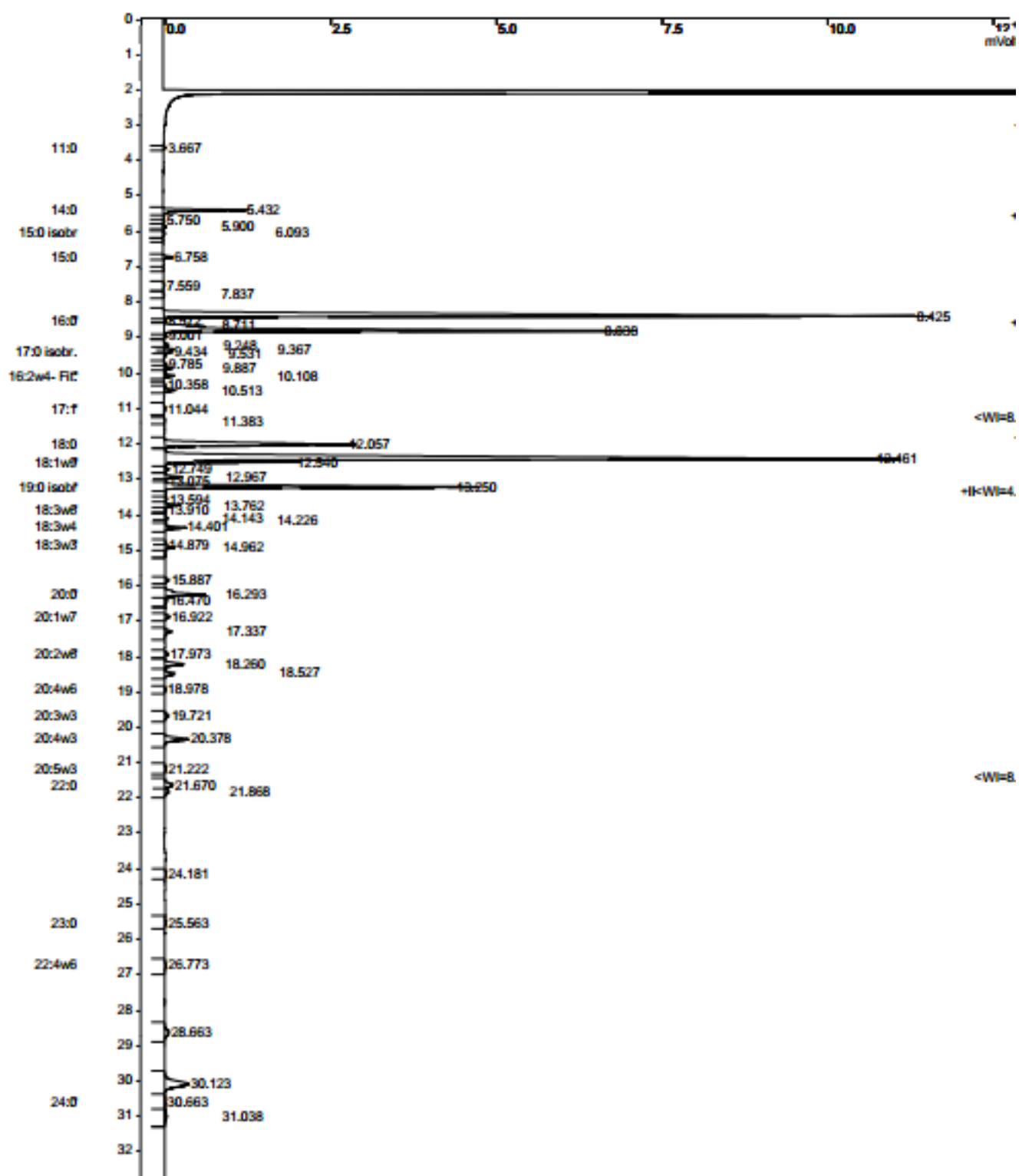
FAO. 2014. *Culture Aquatic Species Information Programme Argyrosomus regius (Asso, 1801)*. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en>. Acesso a 24 de Junho de 2014.

University of Maryland Medical Center. 2013a. *Omega-3 fatty acids*. Disponível em <<http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/omega3-fatty-acids>> Acesso a 15 de Setembro de 2014.

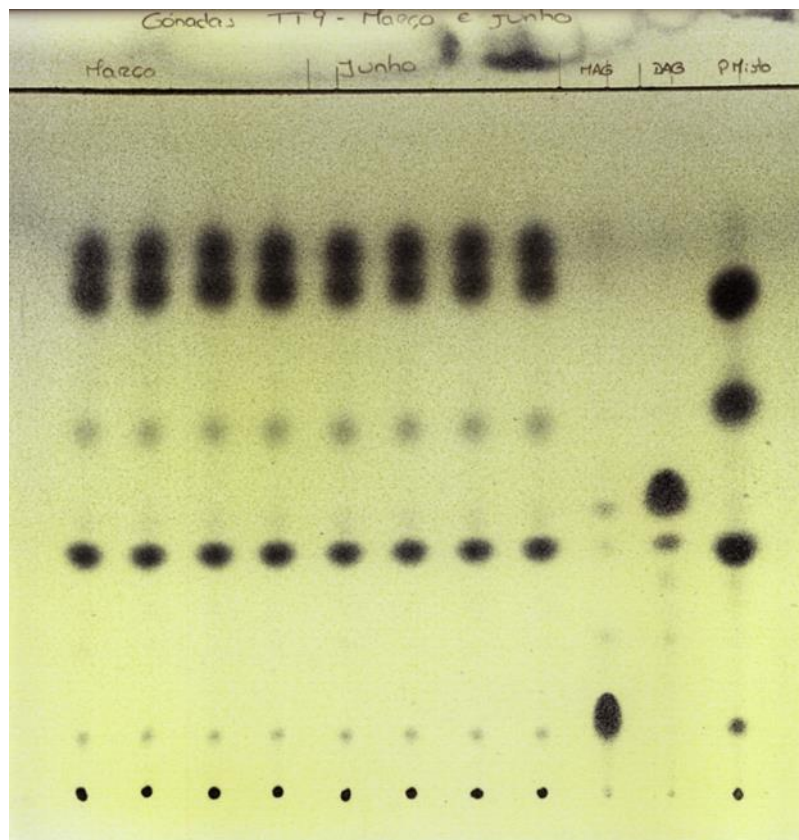
University of Maryland Medical Center. 2013b. *Omega-6 fatty acids*. Disponível em <<http://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/omega6-fatty-acids>> Acesso a 15 de Setembro de 2014.

ANEXOS

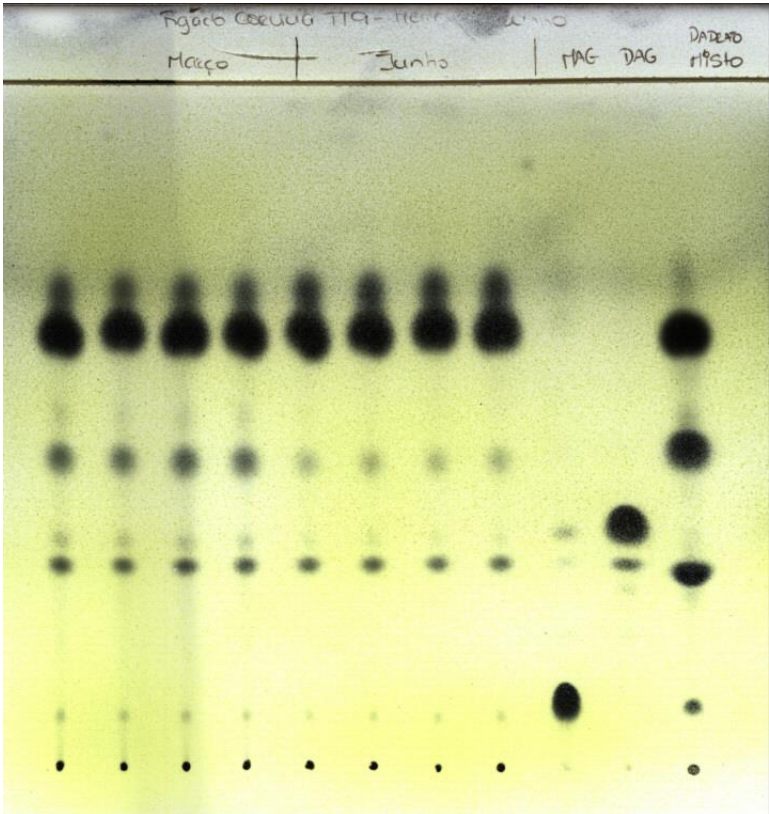
ANEXO I – Cromatograma do Fígado do mês de Julho



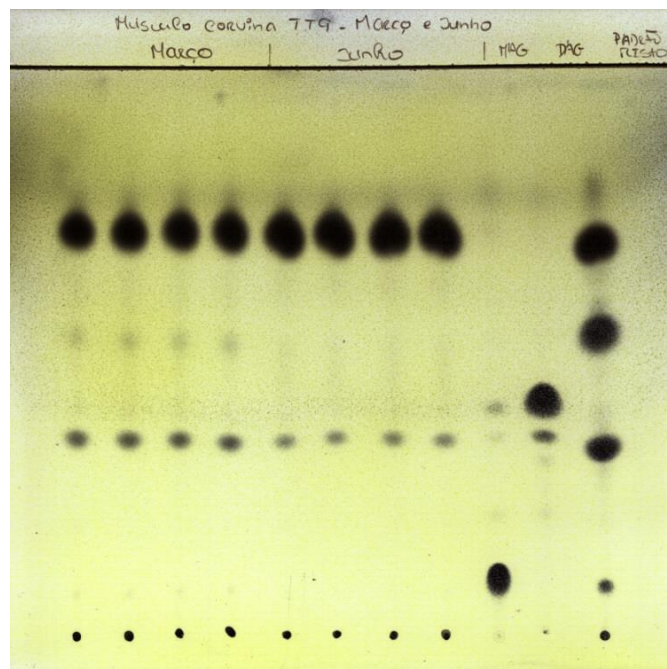
Anexo II - TLC analítica das Gónadas



ANEXO III – TLC analítica do Fígado



ANEXO IV- TLC analítica do Músculo



ANEXO V – Análise de variância ao teor de ácidos gordos, em percentagem dos ácidos gordos totais, ao longo do tempo, nas Gónadas

Variável	Média	Diferenças
Abril SFA	23,82	A
Março SFA	24,05	A
Fevereiro SFA	27,40	AB
Janeiro SFA	28,88	AB
Junho SFA	31,53	BC
Julho SFA	35,32	C
Maio SFA	36,33	C

Variável	Média	Diferenças
Janeiro MUFA	19,40000	A
Fevereiro MUFA	19,90000	A
Junho MUFA	22,00000	A
Maio MUFA	22,26667	A
Julho MUFA	22,75000	A
Abril MUFA	33,45000	B
Março MUFA	34,10000	B

Variável	Média	Diferenças
Março PUFA	37,50	A
Abril PUFA	38,02	A
Julho PUFA	38,25	A
Maio PUFA	38,35	A
Junho PUFA	43,25	AB
Fevereiro PUFA	49,28	BC
Janeiro PUFA	50,33	C

Variável	Média	Diferenças
Maio 18:2 n-6	8,83	A
Junho 18:2 n-6	9,10	A
Janeiro 18:2 n-6	9,23	A
Julho 18:2 n-6	9,53	A
Fevereiro 18:2 n-6	10,50	A
Abril 18:2 n-6	12,30	B
Março 18:2 n-6	12,78	B

Variável	Média	Diferenças
Março 20:4 n-6	2,05	B
Abril 20:4 n-6	2,68	B
Junho 20:4 n-6	5,48	A
Fevereiro 20:4 n-6	5,53	A
Maio 20:4 n-6	6,35	A
Julho 20:4 n-6	6,42	A
Janeiro 20:4 n-6	6,55	A

Variável	Média	Diferenças
Maio 20:5 n-3	3,48	A
Julho 20:5 n-3	3,52	A
Abril 20:5 n-3	3,88	AC
Junho 20:5 n-3	4,23	ABC
Março 20:5 n-3	4,48	BC
Fevereiro 20:5 n-3	4,82	B
Janeiro 20:5 n-3	4,98	B

Variável	Média	Diferenças
Julho 22:5 n-3	1,08	B
Março 22:5 n-3	1,18	AB
Maio 22:5 n-3	1,18	AB
Abril 22:5 n-3	1,23	AB
Fevereiro 22:5 n-3	1,57	A
Junho 22:5 n-3	1,60	A
Janeiro 22:5 n-3	1,60	A

Variável	Média	Diferenças
Março 22:6 n-3	12,40	A
Abril 22:6 n-3	12,70	A
Julho 22:6 n-3	12,85	A
Maio 22:6 n-3	13,30	A
Junho 22:6 n-3	15,98	AB
Janeiro 22:6 n-3	20,85	BC
Fevereiro 22:6 n-3	20,93	C

ANEXO VI – Análise de variância ao teor de ácidos gordos, em percentagem dos ácidos gordos totais, ao longo do tempo, no Fígado

Variável	Média	Diferenças
Fevereiro SFA	28,38	A
Janeiro SFA	28,78	A
Março SFA	28,80	A
Abril SFA	29,67	A
Maio SFA	31,95	AB
Junho SFA	34,27	B
Julho SFA	35,23	B

Variável	Média	Diferenças
Julho MUFA	43,17	A
Março MUFA	43,48	A
Fevereiro MUFA	43,56	A
Maio MUFA	43,95	A
Junho MUFA	45,00	A
Abril MUFA	45,02	A
Janeiro MUFA	45,92	A

Variável	Média	Diferenças
Junho PUFA	19,22	B
Julho PUFA	20,15	BC
Maio PUFA	21,98	ABC
Abril PUFA	23,78	ABC
Janeiro PUFA	24,05	AC
Fevereiro PUFA	25,88	A
Março PUFA	26,00	A

Variável	Média	Diferenças
Junho 18:2 n-6	11,52	B
Julho 18:2 n-6	12,85	AB
Maio 18:2 n-6	13,18	AB
Janeiro 18:2 n-6	13,43	AB
Abril 18:2 n-6	13,55	AB
Março 18:2 n-6	14,45	A
Fevereiro 18:2 n-6	14,96	A

Variável	Média	Diferenças
Junho 20:4 n-6	0,52	A
Julho 20:4 n-6	0,60	A
Maio 20:4 n-6	0,63	A
Abril 20:4 n-6	0,72	A
Março 20:4 n-6	0,73	A
Janeiro 20:4 n-6	0,75	A
Fevereiro 20:4 n-6	2,00	A

Variável	Média	Diferenças
Junho 20:5 n-3	1,23	A
Julho 20:5 n-3	1,25	AB
Fevereiro 20:5 n-3	1,34	AB
Abril 20:5 n-3	1,40	AB
Maio 20:5 n-3	1,57	ABC
Janeiro 20:5 n-3	1,63	BC
Março 20:5 n-3	1,95	C

Variável	Média	Diferenças
Julho 22:5 n-3	0,48	A
Fevereiro 22:5 n-3	0,54	A
Junho 22:5 n-3	0,60	A
Maio 22:5 n-3	0,63	A
Janeiro 22:5 n-3	0,65	A
Março 22:5 n-3	0,68	A
Abril 22:5 n-3	0,68	A

Variável	Média	Diferenças
Julho 22:6 n-3	2,65	A
Junho 22:6 n-3	2,85	A
Maio 22:6 n-3	3,13	AB
Abril 22:6 n-3	3,90	AB
Janeiro 22:6 n-3	4,25	AB
Março 22:6 n-3	4,60	AB
Fevereiro 22:6 n-3	4,70	B

ANEXO VII – Análise de variância ao teor de ácidos gordos, em percentagem dos ácidos gordos totais, ao longo do tempo, no Músculo

Variável	Média	Diferenças
Fevereiro SFA	26,10	A
Março SFA	28,87	AB
Abril SFA	30,40	AB
Janeiro SFA	30,82	AB
Maio SFA	33,38	AB
Julho SFA	33,38	AB
Junho SFA	34,53	B

Variável	Média	Diferenças
Julho MUFA	33,45	A
Março MUFA	33,75	A
Fevereiro MUFA	34,10	A
Abril MUFA	34,98	A
Janeiro MUFA	35,18	A
Maio MUFA	35,43	A
Junho MUFA	38,28	A

Variável	Média	Diferenças
Junho PUFA	25,42	A
Maio PUFA	29,52	AB
Julho PUFA	31,12	AB
Janeiro PUFA	32,50	AB
Fevereiro PUFA	32,63	AB
Abril PUFA	32,87	AB
Março PUFA	37,05	B

Variável	Média	Diferenças
Janeiro 18:2 n-6	12,33	A
Junho 18:2 n-6	12,58	AB
Março 18:2 n-6	13,28	AB
Abril 18:2 n-6	13,63	AB
Fevereiro 18:2 n-6	13,63	AB
Maio 18:2 n-6	13,80	AB
Julho 18:2 n-6	14,05	B

Variável	Média	Diferenças
Junho 20:4 n-6	0,88	A
Maio 20:4 n-6	1,22	A
Abril 20:4 n-6	1,28	A
Janeiro 20:4 n-6	1,30	A
Março 20:4 n-6	1,48	A
Julho 20:4 n-6	1,48	A
Fevereiro 20:4 n-6	1,48	A

Variável	Média	Diferenças
Junho 20:5 n-3	2,38	C
Maio 20:5 n-3	2,65	AC
Julho 20:5 n-3	2,67	AC
Fevereiro 20:5 n-3	3,04	AB
Abril 20:5 n-3	3,22	AB
Janeiro 20:5 n-3	3,38	B
Março 20:5 n-3	3,43	B

Variável	Média	Diferenças
Junho 22:5 n-3	0,73	A
Julho 22:5 n-3	0,75	A
Maio 22:5 n-3	0,75	A
Abril 22:5 n-3	1,00	AB
Janeiro 22:5 n-3	1,08	B
Fevereiro 22:5 n-3	1,10	B
Março 22:5 n-3	1,17	B

Variável	Média	Diferenças
Junho 22:6 n-3	5,57	A
Maio 22:6 n-3	7,63	A
Julho 22:6 n-3	8,90	A
Fevereiro 22:6 n-3	9,43	A
Abril 22:6 n-3	9,65	A
Janeiro 22:6 n-3	10,30	A
Março 22:6 n-3	11,98	A